

Aus dem Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. Ulrich Lotzmann  
Abteilung für Zahnerhaltung, Leiter: Prof. Dr. Vitus Stachniss

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,  
Standort Marburg

# Zur Verwendung von ozoniertem Sauerstoff als Desinfektionsmittel im Wurzelkanal

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg  
vorgelegt von

Leona Giepen, geb. Bohackova aus Marienbad

Marburg, 2009

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am  
29.06.2009.

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekan:	Prof. Dr. M. Rothmund
Referent:	Prof. Dr. R. Stoll
Coreferent:	Prof. Dr. R. Mengel

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Problemstellung .....	4
2. Ziel der Arbeit .....	6
3. Literatur .....	7
4. Material und Methoden .....	31
5. Vorversuche .....	38
6. Ergebnisse .....	41
7. Diskussion .....	45
8. Zusammenfassung und Summary .....	52
9. Literaturverzeichnis .....	54
10. Materialliste .....	64
11. Lebenslauf .....	65
12. Lehrerverzeichnis .....	66
13. Danksagung .....	67
14. Ehrenwörtliche Erklärung .....	68

## 1. Einleitung und Problemstellung

Im Vordergrund aller endodontischen Bemühungen steht die dauerhafte Erhaltung des Zahnes. Statistische Auswertungen der Kassenzahnärztlichen Bundesvereinigung ergaben, dass der Stellenwert von Wurzelkanalbehandlungen in der Zahnmedizin immer größer wird. In den letzten zwanzig Jahren ist die Anzahl der Wurzelkanalbehandlungen um fast 50% angestiegen, wobei die Anzahl der Zahnextraktionen um fast 50% zurückgegangen ist [KZBV Jahrbuch 2007]. Deshalb ist es von großer Bedeutung, die Wurzelkanalbehandlung und deren umfassende Arbeitsschritte zu optimieren, um damit eine sichere Prognose jedes einzelnen endodontisch zu versorgenden Zahnes zu gewährleisten.

Liegt bei einem Zahn eine Infektion des Wurzelkanalsystems vor, so ist die vollständige Dekontamination des endodontischen Kanalsystems und der angrenzenden Kompartimente durch eine anschließende dichte Wurzelfüllung erforderlich, um den Zahn dauerhaft und biologisch zu erhalten. Die wichtigsten Schritte einer endodontischen Behandlung setzen sich aus folgenden Abläufen zusammen:

- die gründliche mechanische Aufbereitung,
- die sorgfältige chemische Desinfektion,
- ein möglichst bakteriendichter Verschluss bzw. die Wurzelfüllung.

Im Zuge der mechanischen Aufbereitung wird infiziertes Dentin entfernt. Durch die Erweiterung der Wurzelkanäle wird außerdem Raum geschaffen für die Applikation von flüssigen Desinfektionsmitteln durch eine Spülkanüle. Eine alleinige mechanische Instrumentierung ist jedoch nicht ausreichend, um die notwendige Keimreduktion herbeizuführen, da viele nicht instrumentierbare Bereiche im Wurzelkanalsystem zurück bleiben.

Nur in der Kombination mit der chemischen Desinfektion wird die Wurzelkanalbehandlung ein langfristiger Erfolg. Man spricht dann von der chemo-mechanischen Aufbereitung. Sie unterscheidet sich von dem alleinigen mechanischen Abtrag des infizierten Gewebes vor allem durch die Verwendung von chemisch-wirksamen Spüllösungen.

Diese vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Aspekt der chemischen Desinfektion während der Wurzelbehandlung. Es soll insbesondere die desinfizierende Wirksamkeit der etablierten flüssigen Spüllösungen und des ozonierten Sauerstoffes verglichen werden.

Es soll experimentell untersucht werden, ob das Ozon als ein Alternativpräparat neben den etablierten flüssigen Spüllösungen zur chemo-mechanischen Aufbereitung eingesetzt werden kann und ob diese Methode einen Vorteil bietet gegenüber der herkömmlichen Desinfektion und Spülung mit flüssigen Agenzien. Es ist bekannt, dass flüssige Lösungen im Wurzelkanal nur einen Millimeter tiefer gelangen als die Spitze der Spülkanüle [Ram 1977]. Der Einsatz gasförmiger Desinfektion im Wurzelkanal könnte hier eine gute Alternative darstellen.

## 2. Ziel der Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Studie ist es, die Wirkung des Ozongases auf ein in-vitro- Modell am extrahierten menschlichen Zahn zu beurteilen. Die daraus gewonnenen Hinweise und Informationen sollen Aufschluss für die weitere technische Entwicklung und den Einsatz von Ozon in der Endodontie liefern. Diese Studie kann auch als Grundlage für weitere Studien dienen, bei denen die Verwendung von ozoniertem Wasser als Alternative zu herkömmlichen Spüllösungen untersucht wird.

Es soll folgende Hypothese experimentell untersucht und mit einem geeigneten statistischen Verfahren verifiziert oder falsifiziert werden:

- Im Vergleich zu einer Negativgruppe (bekannt unwirksames Präparat) bietet Ozongas einen Vorteil bei der Desinfektion von infizierten Wurzelkanälen.
- Im Vergleich zu einer Positivgruppe (Goldstandard, bekannt wirksames Präparat) bietet Ozongas schlechtere Ergebnisse bei der Desinfektion von infizierten Wurzelkanälen.
- Zusätzlich sollte die Wirkung von Ozon im Vergleich zu gebräuchlichen Desinfektionsmitteln ermittelt werden.

### 3. Literatur

Die Wurzelkanalbehandlung setzt sich zusammen aus folgenden Schritten:

- die Entfernung von vitalem, entzündetem, gangränösem und nekrotischem Gewebe aus dem Wurzelkanal mittels spezieller Wurzelkanalinstrumente.
- der Abtrag des infizierten Wurzel Dentins sowie die konische Aufbereitung eines Kanals.
- die Desinfektion des Wurzelkanalsystems mit Hilfe von verschiedenen etablierten Spüllösungen.
- das definitive Füllen des Wurzelkanals um einen dichten Verschluss gegen das umliegende Gewebe zu gewährleisten und somit eine Reinfektion dauerhaft zu vermeiden.

Die erfolgreiche Behandlung einer apikalen Parodontitis besteht in der Eliminierung des infizierten Gewebes aus dem Wurzelkanal [[Haapasalo et al. 2007](#)]. Man spricht auch von der Reinigung des Wurzelkanalsystems. Diese Reinigung erfolgt primär durch den Einsatz von Spüllösungen. Durch die Instrumente wird Platz für die Spüllösungen im Wurzelkanal geschaffen. Um die Desinfektionswirkung während der Aufbereitung zu verbessern, werden antimikrobielle Spüllösungen eingesetzt. Diese dienen zugleich dem Abtransport der beim Instrumentieren entstehenden Dentinspäne und als Gleitmittel für die Wurzelkanalinstrumente. Als Spüllösungen werden bisher verschiedene Agenzien angewendet, wie z. Bsp. Wasserstoffperoxid, Chlorhexidin und Natriumhypochlorit. Obwohl die meisten dieser Lösungen eine mehr oder weniger starke antimikrobielle Wirkung zeigen, hat sich das Natriumhypochlorit in den Konzentrationen zwischen 0,5%-5% als Spüllösung überwiegend durchgesetzt

[The 1979]. Die Frage, ob es ebenso gut in Kombination mit den folgenden in dieser Studie untersuchten Agenzien eingesetzt werden kann und sollte, wird im Laufe dieser Arbeit ebenso erörtert.

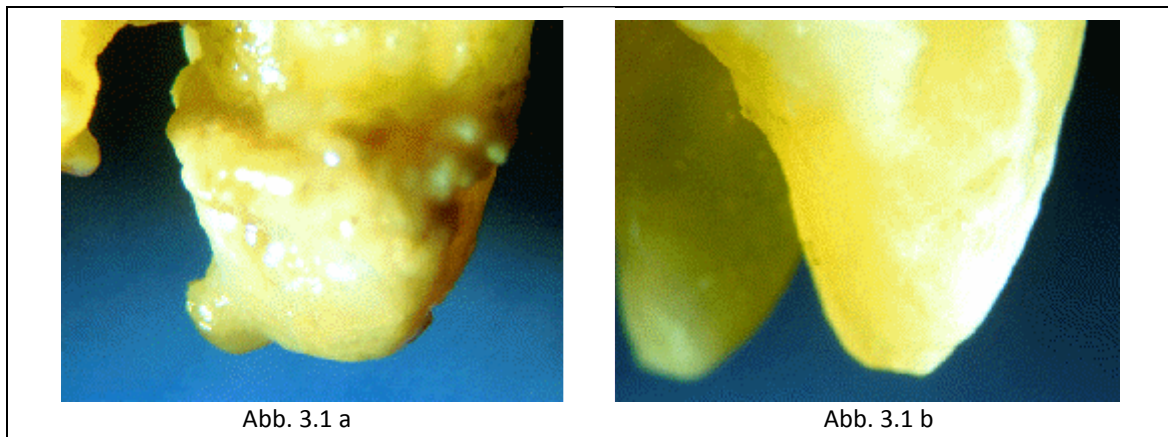
### 3.1 Natriumhypochlorit (NaOCl)

Natriumhypochlorit ist das Natriumsalz der hypochlorigen Säure. Es gilt in einer Konzentration zwischen 0,5 % und 5% als Spüllösung der ersten Wahl [The 1979] und weist folgende Eigenschaften auf:

Sehr gute antimikrobielle Wirkung auf die Mehrzahl der endodontisch relevanten Keime [Sassone et al. 2008]. Es ist stark oxidierend, besitzt eine geringe Toxizität und die Fähigkeit, sowohl nekrotisches wie auch vitales Gewebe aufzulösen und Lipopolysaccharide zu neutralisieren. Sein pH-Wert liegt bei 10,7-12,2 [Yang et al. 1995, Andersen et al. 1992, Türkün et al. 1997]. Die Prozentangaben bei NaOCl beziehen sich auf die enthaltene Menge des wirksamen Chlors. NaOCl-Lösungen sollten möglichst dunkel, kühl und mit luftdichtem Verschluss in einer nicht reagierenden Kunststoffflasche gelagert werden [Frais et al. 2001].

Die gewebeauflösende Wirkung von NaOCl steigt in Abhängigkeit von der Applikationsmenge, der Applikationsdauer, der Temperatur sowie der Konzentration der Lösung [Cunningham et al. 1980, Okino et al. 2004].





Abbildungen 3.1 a und b: Darstellung des gewebeauflösenden Effektes von NaOCl: Extrahierte Zahnwurzel mit anhängenden Geweberesten (Abb. 3.1 a), die ohne mechanische Einwirkung nach 30-minütiger Lagerung in ca. 50ml durch 2,5%iges NaOCl vollständig aufgelöst wurden (Abb. 3.1 b) (Bildquelle: C. Barthel-Zimmer; Habilitationsschrift).

Die Fähigkeit des Natriumhypochlorits nekrotisches Gewebe aufzulösen, ist sehr wichtig, da aufgrund der verzweigten Wurzelkanalmorphologie der Zähne nicht alle Areale des Wurzelkanalsystems mechanisch erreicht werden können. Die Wirkung des NaOCl beruht auf seiner Reaktion mit Proteinen unter Bildung von Chloramin, wobei die Proteine zerfallen. So können auch Pus und nekrotisierendes Gewebe durch NaOCl gelöst werden [Hauser et al. 2007]. Die gewebeauflösende Wirkung des NaOCl beruht auf der Konzentration von freiem Chlor in der Lösung [Zehnder et al. 2002]. Da das wirksame Chlor schnell verbraucht wird, empfiehlt sich ein ständiger Wechsel der Spüllösungen. Die Wirksamkeit der Spülagenzien ist außerdem abhängig von der Anzahl der Wurzelkanäle. Handelt es sich um einwurzelige Zähne, wird ein signifikant geringerer Anteil an Bakterien im Wurzelkanal nachgewiesen als bei mehrwurzeligen Zähnen [Delany et al. 1982]. Mikroorganismen sind in allen Bereichen des Wurzelkanals aufzufinden; dies beinhaltet auch alle Seitenäste und Anastomosen der Dentintubuli im radikulären Teil des Zahnes [Horiba et al. 1990]. Problematisch ist nur, dass NaOCl eine relativ lange Kontaktzeit benötigt, um eine ausreichende oder gar vollständige Auflösung nekrotischer Gewebe zu bewerkstelligen. Es wird eine Spüldauer von 30 Minuten bei einer Konzentration von 1,5-3% zur Erreichung einer ausreichenden Desinfektion und vollständigen Gewebeauflösung im Wurzelkanal

empfohlen [Attin et al. 2002]. Je höher die Konzentration des NaOCl, desto schneller kommt es auch zu einer Gewebeauflösung [Cunningham et al. 1980, Siqueira et al. 2004]. Ab einer Konzentration von 3% NaOCl kommt es bereits bei einer Einwirkzeit ab 2 Minuten zu einer vollständigen Eliminierung von *Enterococcus faecalis* [Gulabivala et al. 2005]. Eine weitere günstige Eigenschaft des NaOCl ist seine Fähigkeit, Bakterienzellwandbestandteile, auch als Lipopolysaccharide (LPS) oder Endotoxine bezeichnet, zu neutralisieren bzw. zu inaktivieren [Buttler et al. 1982, Haight-Ponce et al. 1999]. Es ist bekannt, dass LPS entzündliche Reaktionen hervorrufen und tierexperimentell sogar zur Lyse periapikalen Knochens führen können, wenn sie in den Wurzelkanal eingebracht werden [Dahlen et al. 1981]. LPS werden bei der Vermehrung oder beim Tod von gramnegativen Mikroorganismen freigesetzt. Es ist daher denkbar, dass ein antibakteriell wirksames Agens zwar Mikroorganismen abtötet, dass jedoch die dadurch freigesetzten LPS eine Entzündung persistieren lassen. NaOCl ist also in der Lage, Endotoxine zu blockieren und dadurch infizierte Wurzeloberflächen von der Endotoxin-Aktivität zu befreien [Sarbinoff et al. 1983].

Die apikale Parodontitis ist ein an der Wurzelspitze lokalisierter Entzündungsprozess. Er entsteht als Folge einer durch Mikroorganismen hervorgerufenen Infektion der Pulpa. Welche Mikroorganismen sich im infizierten Wurzelkanal ansiedeln, ist abhängig von den Lebensbedingungen, dem Nahrungsangebot der Keime oder ob es sich um Anaerobier handelt [Figdor, Sundquist 2007]. Die Desinfektionskraft von NaOCl nimmt im Wurzelkanal von koronal nach apikal und von zentral nach peripher ab, was sicherlich darauf zurückzuführen sein dürfte dass, bedingt durch die konische Form des Wurzelkanals, im koronalen und im zentralen Anteil bei Applikation von NaOCl mehr Volumen der Lösung vorliegt [Attin et al. 2002]. Die Adhäsion von Mikroorganismen an mit Hypochlorit vorbehandelten Dentinproben im Vergleich zu Dentinproben, die mit Kochsalzlösung vorbehandelt worden waren, ergab an denen mit Natriumhypochlorit exponierten Proben signifikant weniger Mikroorganismen [Calas et al. 1998]. Der Einsatz von Natriumhypochlorit als Spüllösung in infizierten Wurzelkanälen hat sich gegenüber Kochsalz als signifikant effektiver erwiesen [Byström, Sundquist 1983]. *In vivo* zeigt NaOCl, in Kombination mit

der mechanischen Aufbereitung, eine deutliche Verbesserung der Keimreduktion im Vergleich zu physiologischer Kochsalzlösung. Während die Aufbereitung mit physiologischer Kochsalzlösung nur in 28% der Fälle keimfreie Kanäle erbrachte, wurden bei gleichem Studiendesign, jedoch mit 1,25%iger NaOCl-Lösung in 62% der Fälle keimfreie Wurzelkanäle erreicht [Shuping et al. 2000]. Ähnliche Ergebnisse konnten auch Sjögren et al. nach Aufbereitung mit NaOCl erzielen [Sjögren et al. 1991]. Diese Daten zeigen, dass auf NaOCl aufgrund seiner keimreduzierenden Wirkung bei der Aufbereitung eines Wurzelkanals nicht verzichtet werden sollte. Diese These wird durch zahlreiche, auch frühere Untersuchungen bestätigt [The 1979, Fidgor, Sundquist 2007]. Unter anderem wurden bei diesen Untersuchungen Zähne mit apikaler Parodontitis in einer Sitzung aufbereitet, mit NaOCl gespült und anschließend gefüllt. Bevor die Zähne gefüllt worden sind, wurden Proben aus dem Wurzelkanal entnommen, um die Keimzahl zu bestimmen. Bei den negativen Kulturen ergab eine 5-Jahre-Untersuchung eine bestehende Keimfreiheit zu 94%. War der Wurzelkanal nicht keimfrei vor der Wurzelfüllung ergab die Untersuchung nur zu 68% keimfreie Verhältnisse. Es ist also notwendig, vor der Wurzelfüllung keimfreie Verhältnisse im Wurzelkanal zu schaffen, um auf lange Sicht eine erfolgreiche Wurzelbehandlung gewährleisten zu können. NaOCl-Spülung als Mittel der Wahl wird auch hier wieder bestätigt [The 1979, Sjögren et al. 1997].

Zur Feststellung der antibakteriellen Effektivität von NaOCl an verschiedenen Keimen wurde unter anderem NaOCl in 5,25% Konzentration an *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus salivarius*, *E. coli* und *Candida albicans* als Agens erprobt. NaOCl war allen anderen Spülflüssigkeiten wie CHX, Cresophene (Paramonochlorphenol) und Ethanol überlegen. Es konnte außerdem gezeigt werden, dass NaOCl in absteigender Konzentration an antibakterieller und gewebeauflösender Wirksamkeit abnimmt [Ayhan et al. 1999, Okino et al. 2004].

Die Wirksamkeit von 5%igem NaOCl wurde auch am oralen Biofilm bestätigt, wobei mit typischen Keimen besiedelte Proben für 60 Sekunden in eine 5%ige NaOCl-Lösung getaucht worden sind. NaOCl galt hierbei als positive Kontrollgruppe neben der

Chlorhexidin-Lösung. NaOCl war in der Lage, alle Keime in dem Biofilm vollständig zu eliminieren [Müller et al. 2007].

Eine 3–6%ige NaOCl-Lösung zeigt im Vergleich zu niedrigeren Konzentrationen einen wesentlich besseren desorptiven Effekt für Proteine, was letzten Endes zu verschlechterten Lebens- und Adhäsionsbedingungen von Mikroorganismen führt. Interessant ist eventuell auch der Aspekt, dass frisch angemischtes 5%iges NaOCl seine gewebeauflösende Eigenschaft für etwa 10 Wochen beibehält, während eine 2,62%ige oder 1%ige Lösung nach ein bis zwei Wochen diese Eigenschaft verliert [Johnson, Remeikis 1993]. Die Wirksamkeit einer desinfizierenden Spüllösung ist abhängig von den Eigenschaften der jeweiligen Mikroorganismen im Biofilm des Wurzelkanals und von der Kontaktzeit der Lösung. NaOCl zeigte antibakterielle Wirkung bereits nach 2 min. bei fast allen im infizierten Wurzelkanal beteiligten typischen Keimen wie *Enterococcus faecalis*, *Prevotella intermedia* oder *Fusobacterium nucleatum*, wohingegen Chlorhexidin erst nach einer Stunde wirksam war [Spratt et al. 2001, Abdullah et al. 2005].

Ein *In-vitro*-Experiment konnte zeigen dass durch Erwärmung von 2,5%igem NaOCl von 22°C auf 37°C in signifikant kürzerer Zeit eine Eliminierung von Bakterien erzielt werden kann [Cunningham, Joseph 1980]. Das so erwärmte NaOCl ist jedoch nur noch für vier Stunden stabil. Die antimikrobielle Wirkung von 0,5%igem NaOCl wurde *in vivo untersucht*, wobei die Aufbereitung mit Ultraschall oder per Hand verglichen worden ist [Sjögren, Sundquist 1987]. Durch Ultraschallapplikation waren nur noch in 29% der Fälle Mikroorganismen nachweisbar, wohingegen bei Handaufbereitung signifikant mehr, nämlich in 55% der Fälle, Bakterien isolierbar waren. Dies ist möglicherweise auf die Erwärmung des NaOCl durch Ultraschallanwendung zurückzuführen, denn der sogenannte Kavitationseffekt durch Ultraschallapplikation ist im Wurzelkanal nicht von klinischer Relevanz. Hierbei muss jedoch noch erwähnt werden, dass die Ultraschallspülung eine passive Spülung sein muss, wobei es zu keinem Kontakt des Instrumentes mit der Kanalwand kommen darf. Die aktive Spülung würde nämlich zu einem Abtrag der Dentinwand führen.

Die alternierende Spülung mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  und NaOCl, wie sie im deutschsprachigen Raum noch häufig durchgeführt wird, bringt gegenüber der alleinigen Applikation von NaOCl keine relevanten Vorteile [The 1979].  $\text{H}_2\text{O}_2$  alleine ist mäßig antibakteriell wirksam, jedoch führt es durch den „schäumenden“ Effekt zu einer verbesserten Entfernung von Debris [Svec et al. 1977]. Wasserstoffperoxid löst außerdem nur vitales, jedoch kein nekrotisches Gewebe auf [Hauser et al. 2007]. Im apikalen Wurzelkanalanteil konnte eine verbesserte Reinigung beobachtet werden, wenn  $\text{H}_2\text{O}_2$  und NaOCl bei der Instrumentierung alternierend eingesetzt wurden im Gegensatz zur Applikation von Kochsalzlösung [Svec et al. 1977]. Die Verwendung beider Spüllösungen führt zu einer Reaktion, aus der Kochsalz, Wasser und Sauerstoff hervorgehen ( $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{NaOCl} \leftrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NaCl} + \text{O}_2$ ). Dass *in vivo* nach Aufbereitung weniger Schmerzsensationen registriert worden sind, wenn beide Spüllösungen gemeinsam angewendet wurden im Vergleich zur alleinigen Applikation von NaOCl, könnte daraus resultieren, dass sich die Lösungen im Wurzelkanal neutralisieren.

In manchen Punkten erscheinen die Ergebnisse der zitierten Studien bezüglich NaOCl durchaus widersprüchlich. Dies liegt sicherlich an der Unterschiedlichkeit der Untersuchungsmethoden, Lösungskonzentrationen, Expositionszeiten und der Auswahl verschieden resistenter Mikroorganismen. Es kann jedoch zusammenfassend gesagt werden, dass NaOCl eine hervorragende desinfizierende Wirkung zugesprochen werden kann, die einen mit der Konzentration steigenden gewebeauflösenden Effekt besitzt und in der Lage ist, bakterielle Endotoxine zu neutralisieren. Damit ist es nach wie vor ein geeignetes Agens zur Unterstützung der chemo-mechanischen Aufbereitung.

### 3.2 Chlorhexidindigluconat

Die gute desinfizierende Wirkung des Chlorhexidin ist seit langem bekannt und in verschiedenen Studien nachgewiesen [Davies et al. 1970, Kidd 1991]. Chlorhexidin gehört zu der Gruppe der Bisguanide. Seine Zusammensetzung ist 1,1'-Hexamethylen-bis[5-(4-chlorphenyl)-biguanid], kurz CHX. Es besitzt eine hohe Substantivität mit reversibler Bindung ohne Aktivitätsverlust. Aufgrund dessen wirkt CHX nachhaltig antibakteriell (von 48 Stunden bis 12 Tage) [Leonardo et al. 1999]. Chlorhexidin zeigt in Konzentrationen zwischen 0,2% bis 2 % ebenso wie NaOCl eine sehr gute antimikrobielle Wirkung bei guter Bioverträglichkeit. Im Gegensatz zu Natriumhypochlorit besitzt es keine gewebereizende Wirkung [Kuruville, Kamath 1998]. Es wirkt bakteriostatisch und bakterizid gegen grampositive Bakterien und in höheren Konzentrationen auch gegen gramnegative Bakterien [Rosenthal et al. 2004, Ercan et al. 2006]. Es wirkt jedoch nicht gewebeauflösend und kann Endotoxine (LPS) nicht neutralisieren [Kuruville, Kamath 1998]. Kommt es bei der Spülung zum Kontakt zwischen CHX und NaOCl, kann es zum Ausfall von CHX-Kristallen im Wurzelkanal kommen [Bargholz et al. 2006, Praxisleitfaden Endodontie]. Die Wurzelkanäle sollten deshalb bei aufeinanderfolgenden Spülungen zwischendurch getrocknet werden.

In jüngerer Zeit gerät Chlorhexidin immer stärker ins Blickfeld der Forschung. CHX wurde 1954 von Davies et al. als Desinfektionsmittel eingeführt und wird in vielen Bereichen der Medizin, u.a. auch zur Haut- und Händedesinfektion angewendet. Auch im Bereich der Kosmetik und Pharmazie, zur Konservierung von Cremes, Deodorants, Augentropfen oder Wundpräparaten findet CHX Anwendung. 1970 konnte erstmalig gezeigt werden, dass durch die täglich zweimalige Anwendung einer 0,2%igen CHX Lösung eine Plaquebildung und damit gleichzeitig die Ausbildung einer Gingivitis verhindert werden konnte [Davies et al. 1970].

CHX wird in der Zahnmedizin als Digluconat verwendet. CHX wirkt in Konzentrationen von ca. 100ppm bakterizid und besitzt noch bei Konzentrationen von ca. 0,19ppm bakteriostatische Eigenschaften. Das Spektrum der auf CHX sensitiven

Mikroorganismen erstreckt sich über eine breite Spanne grampositiver und gramnegativer Bakterien, von denen jedoch die grampositiven sensibler zu sein scheinen als einige gramnegative, wie z. Bsp. *Pseudomonas aeruginosa*. Durch seinen kationischen Charakter hat es die Fähigkeit, sich an alle negativ geladenen Flächen anzulagern, wodurch es zu einer Art Reservoirbildung kommt. Diese Flächen können Speichelmuzine, Bakterienzellen, Pellikel oder Hydroxylapatit sein. Die Bindung an diese Flächen kommt über anionische Gruppen wie Phosphat-, Sulfat- oder Carboxylgruppen zustande. CHX besitzt eine starke, jedoch pH-abhängige Bindung an Serumalbumin, in dessen Gegenwart auch die antibakteriellen Eigenschaften abnehmen [Portenier et al. 2006]. Während nach CHX-Applikation eine verzögerte Wundheilung in Mukosa/Knochenläsionen beobachtet worden ist [Bassetti, Kallenberger 1980], wurden keine Wundheilungsstörungen nach CHX-Applikation bei Studien mit involvierten Knochenläsionen entdeckt [Brennan et al. 1986]. Allerdings war bei den zuletzt zitierten Studien kein knöchernes Gewebe involviert. Die hohe antimikrobielle Effektivität, seine geringe Toxizität und seine ausgeprägte Substantivität legen nahe, CHX als Desinfektionslösung im Wurzelkanal zu applizieren. Der Einsatz von CHX als antimikrobielle Spüllösung zum Einsatz in der Endodontie wird in *In-vitro*-Studien bestätigt, die entweder frisch extrahierte Zähne mit nekrotischem, infiziertem Endodont verwendeten oder frisch extrahierte Zähne mit endopathogenen Mikroorganismen inokulierten und anhand dieser die Effektivität der Desinfektionslösungen untersuchten. Mit diesem Studiendesign wurde bereits 1982 die antimikrobielle Überlegenheit einer 0,2%igen CHX-Lösung gegenüber physiologischer Kochsalzlösung beobachtet. Dabei zeigte die Behandlung von infizierten Wurzelkanälen mit CHX 0,2%ig eine 80%ige absolute Keimfreiheit bei einwurzeligen Zähnen und eine 50%ige Keimfreiheit bei mehrwurzeligen Zähnen [Delany 1982].

Chlorhexidin findet nicht nur als Spülagens Einsatz, sondern kann ebenfalls als medikamentöse Einlage in Form von Gel im infizierten Wurzelkanal angewendet werden [Wang et al. 2007]. Eine Studie belegt, dass nach einer Einlage mit Chlorhexidin-Gel signifikant weniger Keime im Wurzelkanal nachweisbar sind, wenn

diese Einlage mindestens 7 Tage im Wurzelkanal belassen wird [Komorowski et al. 2000]. Diese durch die antimikrobielle Wirkung von CHX erreichte Keimfreiheit im Wurzelkanal hält dann mindestens 21 Tage an [Lenet et al. 2000].

In Studien, in welchen medikamentöse Einlagen in Abhängigkeit von der Dauer untersucht worden sind, ergaben eine ganz deutliche Überlegenheit von CHX 2% in Gel-Form. Verglichen wurden Kalziumhydroxid gemischt mit Chlorhexidin-Gel 2%, Chlorhexidin-Gel 2% allein und nur Kalziumhydroxid als medikamentöse Einlage im Wurzelkanal für eine Dauer von 1 bis 15 Tagen. Mit Kalziumhydroxid allein als medikamentöse Einlage konnte zu jeder Zeit *Enterococcus faecalis* nachgewiesen werden. Kalziumhydroxid gemischt mit CHX-Gel ergab ebenfalls eine gute bakterizide Wirkung bezüglich der Eliminierung von *Enterococcus faecalis* im infizierten Wurzelkanal am 1. und 2. Tag. Diese Wirkung konnte allerdings nach 7 Tagen nicht mehr bestätigt werden. Die antibakterielle Wirkung von CHX 2% in Gel-Form hatte auch nach 15 Tagen im Kanal noch volle Wirkung [Gomes et al. 2003].

Was ebenfalls für eine Kombinationstherapie spricht, ist die Tatsache, dass Kalziumhydroxid allein nicht in der Lage ist *Enterococcus faecalis* zu eliminieren. In Kombination mit CHX oder Jodkalium, in den infizierten Wurzelkanal eingebracht, wirkt es dann keimtötend und eliminiert sogar Kalziumhydroxid-resistente Keime. Der Zusatz von CHX oder aber Jodkalium beeinträchtigt außerdem nicht die Alkalinität des Kalziumhydroxid [Siren et al. 2004]. Kalziumhydroxid wirkt aufgrund seines hohen pH-Wertes von 12,4 bakteriostatisch und bildet einen Schutz gegen eine Reinfektion, indem es Säuren neutralisiert. Es regt außerdem die Bildung von Tertiärdentin an [Hellwig, Klimek, Attin; Einführung in die Zahnerhaltung; 2. Auflage]. Kalziumhydroxid weist jedoch, ebenfalls im Gegensatz zu CHX, gewebelösende Eigenschaften auf. Es wirkt, wird es für einige Minuten im Wurzelkanal belassen, schwach gewebeauflösend. Wird es jedoch für eine Woche als medikamentöse Einlage belassen, so wird eine sehr gute Gewebeauflösung erreicht [Andersen et al. 1992].



Die antibakterielle Wirkung von Chlorhexidin und Jodkalium hängt jedoch auch davon ab, wo im Wurzelkanal die Keimeliminierung stattfindet. Diese kann durch Vorbehandlung des Dentins verändert werden. Behandelt man die Wurzelkanäle im Zuge einer Wurzelkanalbehandlung mit beispielsweise EDTA oder Zitronensäure vor, zeigt die antibakterielle Wirkung von CHX oder Jodkalium keine nennenswerte Veränderung in ihrer Eigenschaft. Matrixproteine und Granulozyten können jedoch zur Verminderung der antibakteriellen Wirkung der genannten Spüllösungen führen [Portenier et al. 2002].

Eine neue Substanz, welche künftig als wässrige Spüllösung in der Endodontie eingesetzt werden könnte, ist MTDA (engl. tetracycline isomer, acid, detergent). Sie soll zum einen den „smear-layer“ entfernen und gleichzeitig eine Desinfektion des Wurzelkanalsystems bewirken [Torabinejad et al. 2003]. Die Wirkung des MTDA basiert auf Tetracyclin, einem Breitbandantibiotikum sowie der Zitronensäure, welche die Schmierschicht entfernt und einem zugefügtem Detergens, welches die Oberflächenspannung reduzieren soll [Torabinejad et al. 2003]. Untersucht wurde die antibakterielle Wirkung im Vergleich zu 0.2%igem CHX. Es ergaben sich minimale Unterschiede in der Anfälligkeit von *Enterococcus faecalis* gegenüber den Tetracyclinen und CHX, wodurch MTDA neben den herkömmlich bekannten Spüllösungen eingesetzt werden könnte [Portenier et al. 2006].

In den In-vivo-Untersuchungen von Klimm et al. wurde CHX allein und im Vergleich zu NaOCl oder Kalziumhydroxid untersucht. So wurde auch die Ausheilung periapikaler Läsionen nach Aufbereitung und mehrfacher Spülung mit CHX und ohne anschließende Einlage untersucht [Klimm et al. 1989]. Die Autoren konnten in 60% der Fälle nach 6 bis 40 Monaten eine vollständige periapikale Knochenregeneration feststellen und in 24% der Fälle wurde nach 3-8 Monaten eine Verkleinerung der periapikalen Läsionen beobachtet. Ebenfalls in vivo aufbereitete Zähne mit nekrotischem Endodont wurden mit 2%iger CHX-Lösung gespült und sowohl vor und 48 Stunden nach Aufbereitung auf nachweisbare Mikroorganismen untersucht [Leonardo et al. 1999]. Von 18 Zähnen mit isolierbaren Keimen konnten zwei Tage

nach CHX-Applikation nur noch in 3 Zähnen anaerobe Keime nachgewiesen werden. Die Zahl der *Streptococcus mutans*-Kolonien war in allen Fällen auf 0 reduziert. In ähnlicher Weise wurden 60 Zähne aufbereitet, jedoch wurde hierbei 0,2%ige CHX-Lösung mit 2,5%iger NaOCl-Lösung verglichen [Ringel et al. 1982]. Die Autoren untersuchten hierbei, wie viele Sitzungen nötig waren, bis alle Wurzelkanäle nur durch Aufbereitung und Spülung keine Bakterien mehr aufwiesen. Für beide Lösungen musste eine ähnliche Anzahl von Sitzungen anberaumt werden. Während jedoch in den mit NaOCl behandelten Zähnen in elf Fällen nach bereits erreichter Keimfreiheit wieder Wachstum beobachtet wurde, konnte dies in den durch CHX behandelten Zähnen in 24 Fällen festgestellt werden. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant. Die Ergebnisse dieser Studie stellen somit den dem CHX zugeschriebenen Residualeffekt in Frage, d.h. die Eigenschaft, auch über den Applikationszeitpunkt hinaus wirksam zu sein. Der Residualeffekt verlängert die Wirkdauer des CHX, welche bis zu 48 Stunden anhalten kann [Leonardo et al. 1999]. In einer weiteren Studie wurden ebenfalls die antimikrobiellen Eigenschaften von CHX und NaOCl in vivo verglichen [Kuruvilla, Kamath 1998]. Barbosa et al. instrumentierten zur Bestimmung der antimikrobiellen Wirkung verschiedener Substanzen Zähne mit nekrotischem Endodont in vivo und legten anschließend Paramonochlorphenol, Kalziumhydroxid oder 0,12%iges CHX ein [Barbosa et al. 1997]. Die Autoren konnten keinen signifikanten Unterschied in der Desinfektionswirkung der eingelegten Medikamente feststellen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass CHX in seiner antibakteriellen und fungiziden Wirkung in keiner der erwähnten Studien im Vergleich mit NaOCl überlegen war. NaOCl dagegen schnitt bezüglich seiner Desinfektionskraft in verschiedenen Studien zumindest in hohen Konzentrationen (4-5%) signifikant besser ab. Jedoch belegen Studien, dass CHX zumindest die gleiche antibakterielle Wirksamkeit wie NaOCl aufweist [Vahdaty et al. 1993]. Tendenziell scheint eine höhere Konzentration beider Lösungen auch zu einer effektiveren Keimelimination zu führen. CHX kann also bezüglich der antimikrobiellen Eigenschaften durchaus mit NaOCl verglichen werden, wobei vor allem seine geringe Toxizität für den Wirt überzeugt. CHX vermag jedoch

nicht - wie NaOCl - Endotoxine zu neutralisieren. Bisher konnte auch noch kein Gewebe auflösender Effekt von CHX nachgewiesen werden [Okino et al. 2004]. Aus der bisherigen Literaturrecherche kann daher der Schluss gezogen werden, dass auf NaOCl als Spüllösung nicht verzichtet werden sollte; CHX ist als zusätzliche oder Spüllösung der zweiten Wahl zu sehen [Wang et al. 2007].

### 3.3 Chelatoren

Es sollten der Vollständigkeit wegen die Chelatorverbindungen erwähnt werden. Chelatorverbindungen, wie das weit verbreitete Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), sind aus chemischer Sicht großmolekulare Komplexbildner, welche in der Lage sind Calciumionen aus dem Dentin an sich zu binden. Durch das Herauslösen der Calciumionen erfolgt eine Demineralisierung und gleichzeitige Erweichung des Dentins, um das Aufbereiten enger und schwer zugänglicher Wurzelkanäle zu ermöglichen [Hülsmann 2001]. Der Einsatz von Chelatoren dient hauptsächlich der Entfernung der Schmierschicht und zusätzlich erleichtert es das Gleiten von Wurzelkanalinstrumenten im Kanal. Die Konzentrationen des verwendeten EDTA sollten zwischen 15% und 24% liegen, um eine akzeptable Entfernung des „smear-layer“ zu erreichen [Blomlöf et al. 1997]. Der Nachteil des EDTA ist seine eingeschränkte antibakterielle Wirkung und seine destruktive Wirkung auf das Wurzeldentin, wenn seine Einwirkzeit länger als 1 Minute beträgt [Torabinejad et al. 2003]. Neben den Untersuchungen zu EDTA gibt es In-vitro-Studien zu 4-Methyl-1,2,4-Triazolin-3,5-Dion bzw. MTAD. Diese Studien belegen, dass MTAD weniger destruktiv ist als das EDTA, jedoch in Kombination mit beispielsweise NaOCl die gleiche Effektivität aufweist wie EDTA und NaOCl in Kombination [Torabinejad et al. 2003]. Über diesen Sachverhalt sind jedoch noch weitere Studienergebnisse erforderlich; genauso wie über die Aussage, ob EDTA in Kombination mit NaOCl oder CHX gleich effektiv ist bezüglich der Entfernung des

„smear-layer“ oder besser getrennt voneinander angewendet werden sollte [Grawehr et al. 2003, Arruda et al. 2007].

### 3.4 Wasserstoffperoxid

Eine Wechsspülung Wasserstoffperoxid und NaOCl, wie es Jahrzehnte lang als Standard galt, wird heutzutage nicht mehr empfohlen, da sowohl die antimikrobielle als auch die gewebeauflösende Wirkung des NaOCl durch gegenseitige Neutralisation stark reduziert wird [The 1979]. Die Verwendung beider Spüllösungen führt zu einer Reaktion aus der Kochsalz, Wasser und Sauerstoff hervorgehen ( $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{NaOCl} \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NaCl} + \text{O}_2$ ). Dadurch kommt es zu einer gegenseitigen Neutralisation von NaOCl und  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Die Wirkung des  $\text{H}_2\text{O}_2$  basiert auf einer kurzfristigen bakteriziden und Sauerstoff freisetzenden unbeständigen Verbindung.  $\text{H}_2\text{O}_2$  ist desinfizierend wirksam und durch den schäumenden Effekt kommt es zu einer besseren Entfernung von Debris [Svec et al. 1977].  $\text{H}_2\text{O}_2$  wird in Konzentrationen von 3%-5%igen Lösungen verwendet. Diverse Studien konnten aber zeigen, dass sowohl die desinfizierende Wirkung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  niemals besser war als die Wirkung von NaOCl allein, sowie dass die Wechsspülung der beiden Lösungen zu keinem besseren Ergebnis führte als die Spülung mit NaOCl allein [Baumgartner, Ibay 1987].

Wasserstoffperoxid löst außerdem nur vitales, jedoch kein nekrotisches Gewebe auf [Hauser et al. 2007]. Im apikalen Wurzelkanalanteil konnte eine verbesserte Reinigung beobachtet werden, wenn  $\text{H}_2\text{O}_2$  und NaOCl bei der Instrumentierung alternierend eingesetzt wurden, im Gegensatz zur Applikation von Kochsalzlösung [Svec et al. 1977].

### 3.5 Ozon

Ozon wurde erstmals 1839 vom Basler Chemieprofessor Christian Schönbein als eigenständiger Stoff beschrieben. 1863 vermutete Soret, dass es sich bei Ozon um eine dreifache Sauerstoff-Verbindung handelte und bereits 1857 wurde von Werner von Siemens die erste technische Apparatur zur Erzeugung von Ozon gebaut. Ozon ( $O_3$ ) ist ein farblos bis blaues Gas. Es besitzt einen charakteristischen Geruch. Ozon beträgt ein Molekulargewicht von 48 g/mol. Damit ist es schwerer als Sauerstoff (Molekulargewicht: 32 g/mol)

Die Anfänge eines breiteren klinischen Einsatzes des Ozons sind mit den Namen A. Wolff, Payr und Aubourg verbunden, bei denen die lokalen Applikationsformen im Vordergrund standen. So hat A. Wolff im ersten Weltkrieg jauchende Wunden, vereiterte Knochenbrüche, Phlegmonen und Abszesse bei Kriegsversehrten behandelt und in einer ersten Publikation bereits 1915 festgehalten. Wesentliche Impulse verdankt die Ozontherapie dem Chirurgen Erwin Payr, der 1935 anlässlich der 59. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie in Berlin eine 290 Seiten umfassende Publikation "Über Ozonbehandlung in der Chirurgie" vorlegte, die als eigentlicher Beginn der Ozontherapie zu werten ist. Haben sich auch heute die Behandlungsmethoden stark verändert, so sind doch die meisten Applikationsformen bereits bei Payr beschrieben. Bis weit in die 50er Jahre des 20. Jahrhunderts geriet der medizinische Einsatz des Ozons wieder in Vergessenheit: besonders der Mangel an ozonresistenten Materialien wie Kunststoffen machte eine lokale Ozonanwendung zur Wundbehandlung oder die rektale Insufflation sehr aufwendig, die erhebliche Ozonbelastung der Raumluft den Umgang mit Ozon praktisch unerträglich. Als Hänslér 1958 einen ersten medizinischen Ozongenerator Ozonosan® vorstellte, der Ozon-Sauerstoffgemische in therapeutisch variablen Dosierungen zuließ und ozonresistente Kunststoffe als Verbrauchsmaterial zur Verfügung standen, konnten gemeinsam mit Hans Wolff die Grundlagen der modernen Ozontherapie erarbeitet werden. Obwohl vergleichsweise einfach in Applikationsformen und Wirkmechanismen, hat sich doch die Ozonanwendung in der Zahnmedizin sehr zaghaft entwickelt [Viehbahn-Hänslér R.,

[Ozonhandbuch 1996](#)]. Als Mentor gilt der Schweizer E. Fisch, der selbst Payr mit Ozon bekannt gemacht hatte und 1952 eine Dissertation und erste Publikation zum Einsatz des Ozons in der Zahnmedizin vorlegte. Erst Ende der 80er Jahre zieht das medizinische Ozon wieder in die zahnmedizinische Behandlung und Forschung ein (Kirschner und Filippi). Ozon ist ein hoch explosives Medium und im gasförmigen Zustand ein kaum noch zu übertreffendes Oxidationsmittel. Die Einsatzgebiete des Ozons sind, neben den Einsätzen in der Medizin/Zahnmedizin, Entkeimung des Trink- und Brauchwassers sowie dessen Anreicherung mit Sauerstoff und die Luft-Entkeimung. Es ist neben Fluor das stärkste bekannte Oxidationsmittel, worauf auch seine antibakterielle Wirkung basiert.

Allgemein bezeichnet man solche Prozesse als Oxidation, bei denen ein Atom oder Molekül Elektronen abgibt. Ein Oxidationsmittel ist eine Elektronen aufnehmende Substanz. Die umgekehrte Reaktion ist die Reduktion, d.h. die Aufnahme von Elektronen. Ozon besitzt eine bakterizide, fungizide und viruzide Wirkung, unter anderem aufgrund seiner hohen Reaktivität [[Stübinger et al. 2006](#), [Nagayoshi et al. 2004](#)].

Die Wirkung des Ozons kann eindeutig als chemischer Vorgang eingestuft werden. Ozon ist ein sehr reaktives Molekül. Grundsätzlich reagiert Ozon mit Elektronen-Donatoren und führt hier zur Veränderung bzw. Zerstörung der Molekülstruktur. Im biologischen Gefüge werden besonders Kohlenstoffdoppelbindungen aufgebrochen [[Roy et al. 1981](#)]. Im Bereich der Zellmembran werden speziell die engständigen Methiongruppen und die ungesättigten Fettsäuren als Bindungspartner gesucht. Generell hängt die zerstörende Wirkung des Ozons von verschiedenen Faktoren ab: dem dynamischen Gleichgewicht zwischen Ozonkonzentration, Einwirkdauer und Menge der extra- und intrazellulär verfügbaren Antioxidantien. In erster Linie ist das Aufbrechen von Kohlenstoffdoppelbindungen dafür verantwortlich, dass Enzyme, Proteine, aber auch Viren, Pilze und Bakterien geschädigt bzw. zerstört werden. Daher kommt es zu einer Inaktivierung und Blockierung von Stoffwechselvorgängen, sowie zu irreversibler Schädigung von

Bakterienmembranen. Die Stoffwechselzelle wird durch Ozon nicht beschleunigt oder verändert.

Durch die starke Reaktivität des Oxydationsmittels Ozon werden natürlich auch Bakterienstoffwechselprodukte, d. h. deren Toxine, angegriffen bzw. durch das Aufbrechen von Doppelbindungen verändert und deaktiviert [Stübinger et al. 2006]. Hier handelt es sich nicht um einen spezifischen Vorgang, der auf säurebildende Bakterien beschränkt ist. Das Bemerkenswerte am Ozon ist ja gerade seine breite Wirkungsbasis durch seine starke Reaktivität und unspezifische Wirkung. Da Ozon eine stark bakterizide Wirkung besitzt, ist es sinnvoll diesen Stoff auch in der Endodontie einzusetzen [Nagayoshi et al. 2004]. Das als Gas eingesetzte Ozon hat den Vorteil, in alle Winkel und Verengungen einzudringen, die dem mechanischen Instrumentarium verschlossen bleiben und dort alle verbliebenen Keime abzutöten, wodurch eine effektive Wurzelfüllung ermöglicht wird.

Angesichts der Tatsache, dass Ozon einerseits hochwirksam gegenüber Bakterien (nach Angaben der Literatur auch gegenüber Pilzen und Viren) ist und sich andererseits wieder in molekularen Sauerstoff zurückbildet (Bindung an organische Strukturen bleiben außen vor), ist Ozon ein Therapeutikum [Filippi 2001]. Es ist weder eine Resistenzbildung der Mikroflora noch die Auslösung von allergischen Reaktionen beobachtet worden. Durch den gasförmigen Zustand ist das Behandlungsmittel überdies in weit höherem Maße als flüssige, gel- oder pastenförmige Applikationen in der Lage, auch engen, schwer zugänglichen und verzweigten Hohlräumen zu folgen (verzweigte Wurzelkanäle, Bi- und Trifurkationen, Fisteln, Zahnfleischtaschen u. ä.) [Filippi et al. 1991].

Da die Zellmembranen von Prokaryonten bzw. Bakterien (zellkernlose Spezies) wegen des fehlenden Cholesterins in ihrem Plasma wesentlich empfindlicher sind im Vergleich zu den Eukaryonten (Zellkern-tragende Spezies), ergibt sich ein deutlicher biologischer Vorteil für die letztgenannte Gruppe, zu der alle höher entwickelten

Lebewesen gehören. Die fungizide Wirkung des Ozons ergibt sich ebenfalls aus demselben Grund (Pflanzenzellen enthalten kein Cholesterin).

Nach Angaben in der Literatur sind Viren bereits nach 8 Sek. tot; ihre Zellhülle wird zerlöchert vom Einschlag unzähliger Sauerstoffatome (in statu nascendi). Wie in Beiträgen nachgewiesen, ist die Wirkung von Ozon auf Bakterien nach 10 Sek. nachweisbar, da aber Millionen von Keimen (in einer Zahnfleischtasche oder kariösen Dentinschicht) abzutöten sind, wird absolute Keimfreiheit erst nach ca. 40 Sek. erreicht [Baysan, Lynch 2004, Baysan et al. 2000].

Aufgrund der zwar relativ hohen erzeugten Ozonkonzentrationen, aber auch der sehr kurzen Applikationszeit (max. 40-60 Sek.), ist nach jetzigem Erkenntnisstand die Ozonanwendung in der Zahnheilkunde unschädlich. Schaden nehmen nur Bakterien, Pilze und Viren. Um jedoch einen Austritt von Ozongas in die Mundhöhle des Patienten zu vermeiden, gibt es am Handstück der Ozongeneratoren Silikonvorrichtungen zum Abdichten (siehe HealOzone® der Fa. KaVo).

Aus mikrobiologischer, insbesondere biochemischer Sicht, gibt es keine Anhaltspunkte, an der Wirksamkeit des Ozons gegenüber Kariesbakterien zu zweifeln [Holmes 2003]. Denn alle Bakterien haben gewisse Gemeinsamkeiten, die sie gegenüber Ozon sehr empfindlich machen:

- Bakterien sind elektrisch negativ geladen, sie ziehen das bipolare, positiv geladene Ozonmolekül an.
- Bakterien besitzen kein Cholesterin, das die Zellmembran schützt.

An dieser Stelle soll auch etwas zu dem Ozon als „Umweltgift“ gesagt werden. Ozon ist ein natürlicher Bestandteil der menschlichen Umwelt und ist seit Menschengedenken existent und wird von Menschen „vertragen“. Ozon-Gefahr droht den Menschen in erster Linie durch eine Dauerbelastung, wie sie als sog.



„Sommersmog“ entsteht. Die intensive UV-Strahlung an heißen Sommertagen im Vergleich zu Tagen mit wolkeigem oder bedecktem Himmel ist natürlich und keinesfalls schädlich, wie die Menschheitsgeschichte beweist. Es sind vielmehr die durch Abgase erzeugten gesundheitsgefährdenden Mischungen aus Ozon und Stickstoffmonoxid bzw. Stickstoffdioxid vermischt mit Rußpartikeln und aromatischen Kohlenwasserstoffen aus laufenden Motoren, die bei der beschriebenen Wetterlage zum sog. Ozonalarm führen. Bei „Ozonalarm“ sollen schweißtreibende Arbeiten und Ausdauersport vermieden werden, um gesundheitliche Schäden zu vermeiden.

Die kurzen Expositionszeiten von wenigen Minuten bei einer medizinischen Behandlung haben keinen gesundheitsschädigenden Einfluss auf den Menschen. (Dr. Stockleben)

Die antibakterielle Wirkung von Ozon ist jedoch nur ausreichend wirksam in Zusammenarbeit mit gewebeauflösenden Medien wie z. Bsp. NaOCl. Denn die Keime, die sich im Biofilm befinden, können durch Ozongas nur in geringem Maße erreicht werden [Müller et al. 2007]. Die sehr gute antibakterielle Wirkung von Ozon dient daher als Ergänzung zur Desinfektion [Hems et al. 2005].

Die Reaktion zur Auflösung von Kohlenstoffdoppelbindungen unter Einwirkung von Ozon zu Carbonylverbindungen nennt man allgemein Ozonolyse.

Allgemeine Reaktionsgleichung der Ozonolyse:

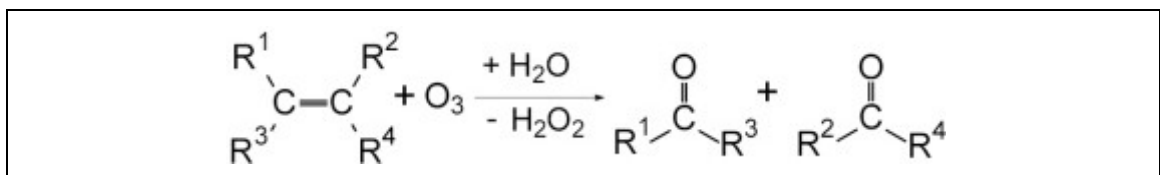


Abb. 3.2: Mechanismus der Ozonolyse

Bereits um 1850 führte Christian Schönbein Reaktionen von Ozon mit organischen Verbindungen durch. 1903 führte Carl Harries die Ozonolyse erstmals bei Untersuchungen zur Zersetzung von Kautschuk durch. 1948 weist Rudolf Criegee die Carbonyloxide nach und schlägt 1949 den Mechanismus der Ozonolyse vor. 1960 kann er schließlich auch die Primärozonide nachweisen:

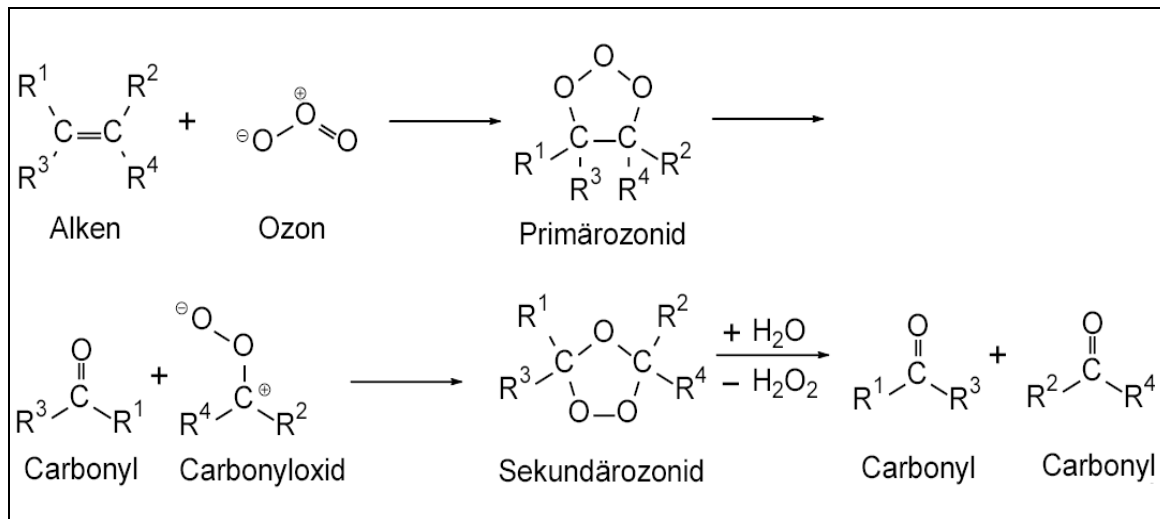


Abb. 3.3: Mechanismus der Ozonolyse

Der von Rudolf Criegee vorhergesagte Mechanismus ist mittlerweile bestätigt.

Ozon addiert in einer 1,3-Dipolaren-Cycloaddition ein Alken und bildet ein pentazyklisches 1,2,3-Trioxolan (auch Primärozonid und Molozonid genannt). Das Primärozonid zerfällt durch eine Cycloreversion in ein Carbonyloxid-Zwitterion und eine Carbonylverbindung, welche in einer erneuten 1,3-Dipolaren-Cycloaddition zu einem 1,2,4-Trioxolan reagieren (auch Sekundärozonid genannt). Das Ozonid wird in Wasser zu den entsprechenden Carbonylverbindungen umgesetzt, wobei Wasserstoffperoxid entsteht. In Ausnahmefällen werden auch keine Ozonide sondern Tetroxane gebildet [[Viehbahn-Hänsler R., Ozonhandbuch 1996](#)].

Die Ozonolyse hat einen relativ begrenzten Anwendungsbereich, da Kohlenstoffketten mit der Ozonolyse lediglich zerstört, nicht aber aufgebaut werden können. Der Umgang mit Ozon birgt Gefahren, z. Bsp. ist es giftig. Früher wurde die Ozonolyse zu Strukturaufklärung eingesetzt, da durch die Produkte auf die Konstitution der Edukte rückgeschlossen werden kann; die Ozonolyse hat hierbei heutzutage aber keinerlei Bedeutung mehr.

Die Ozonolyse ist auch mit Aromaten und Alkinen durchführbar, die Reaktion läuft aber hierbei langsamer ab. Unter bestimmten Bedingungen können die entstehenden Aldehyde und Ketone weiterreagieren: Unter reduktiven Bedingungen (z. Bsp. durch Zusatz von Lithiumaluminiumhydrid) können durch die Ozonolyse Alkohole gewonnen werden, unter oxidativen Bedingungen (z. Bsp. durch das entstehende Wasserstoffperoxid) können sie weiter zu Carbonsäuren oxidiert werden. Um diese Oxidation mit dem Wasserstoffperoxid zu verhindern, wird meist ein Reduktionsmittel hinzugesetzt [[Viehbahn-Hänsler R., Ozonhandbuch 1996](#)].

Das Carbonyloxid-Zwitterion kann unter bestimmten Bedingungen auch andere Reaktionen eingehen; werden Alkohole als Lösungsmittel eingesetzt, kann es mit diesen zu Hydroxyperoxyethern reagieren.

### 3.6 Bakterien im Wurzelkanal

Es ist bekannt und in der Literatur vielfach bestätigt dass Bakterien und ihre Abfallprodukte die Ursache für die Entstehung einer Infektion der Pulpa sind [Roças et al. 2008]. Die bakterielle Infektion eines Wurzelkanalsystems stellt die Hauptindikation für eine Wurzelkanalbehandlung dar. Isoliert man aus einem infizierten Wurzelkanal das nekrotische Gewebe, so zeigt sich eine Mikroflora aus überwiegend anaeroben Bakterien. Das Spektrum der bakteriellen Besiedelung setzt sich überwiegend aus Porphyromonas-, Prevotella-, Fusobakterium-, Peptostreptococcus- und Campylobacter-Spezies zusammen. Bei 70% der isolierten Keime aus einer infizierten Pulkammer handelt es sich um *Enterococcus faecalis*, gefolgt von *C. gracilis*, *L. buccalis*, *N. mucosa* und *P. melaninogenica* [Sassone et al. 2007].

Die Enterokokken zählen zu den Prokaryonten (Bakterien). Ihre Kernstruktur enthält ein nicht mit Proteinen bedecktes zirkuläres DNA-Molekül. Die Kernstruktur liegt als dichtes DNA-Knäuel im Zytoplasma vor. Enterokokken bzw. grampositive Bakterien enthalten eine meist starre Zellwand mit einer Mureinschicht (Peptidoglycan, 20-28nm). Das Peptidoglycan-Makro-Molekül oder Murein (Mauerwerk) ist aus vielen Glycanketten (Zuckerpolymere), die durch Oligopeptide kovalent quervernetzt sind, aufgebaut. Der Kohlenhydratanteil besteht aus alternierenden N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäure-Einheiten. Diese umgibt als Hauptstrukturkomponente die Zelle. In diese Peptidoglycanschicht sind große Mengen Teichonsäure eingelagert. Teichonsäuren sind ein molekulares Markenzeichen der grampositiven Zellwand. Zwischen der Plasmamembran und dem Zellwand-Peptidoglycan liegt ein enger mit Periplasma gefüllter Raum, der sog. periplasmatische Spalt. Lysozym, ein hydrolytisches Enzym, das besonders in Tränenflüssigkeit, in respiratorischen Sekreten

Systematik
Domäne: Bakterien
Abteilung: Firmicutes
Klasse: Bacilli
Ordnung: Lactobacillales
Familie: Enterococcaceae
Gattung: <i>Enterococcus</i>
Wissenschaftlicher Name
<i>Enterococcus</i> (EX THIERCELIN AND JOUHAUD 1903) SCHLEIFER AND KILPPER-BÄLZ 1984
Arten (Auswahl)
<i>E. avium</i>
<i>E. faecalis</i>
<i>E. faecium</i>

und in Speichel vorkommt, spaltet die glykosidischen Bindungen des Kohlenhydratgerüsts im Murein und vermittelt auf diese Weise eine natürliche Abwehr. Die Vermehrung geschieht ungeschlechtlich durch einfache Querteilung. Der normale Standort der weit verbreiteten Enterokokken ist der Darm von Mensch und Tier. Sie sind unbeweglich, katalase-negativ und weisen das Gruppenantigen D auf. Sie können bei 45°C, in Gegenwart von 6,5% NaCl und auch bei einem pH-Wert von 9 wachsen und werden durch diese Eigenschaften von den Streptokokken abgetrennt. Enterokokken besitzen als klassische Opportunisten nur ein geringes pathogenes Vermögen. Sie werden aber häufig als Bestandteil einer Mischflora bei nosokomialen Infektionen isoliert [Kayaoglu et al. 2004]. Eine gefürchtete Enterokokken-Infektion ist die Endokarditis.

Enterokokken sind grampositiv und fakultativ anaerob. Die kugelförmigen (kokkoiden) Bakterien sind in Paaren oder kurzen Ketten angeordnet.

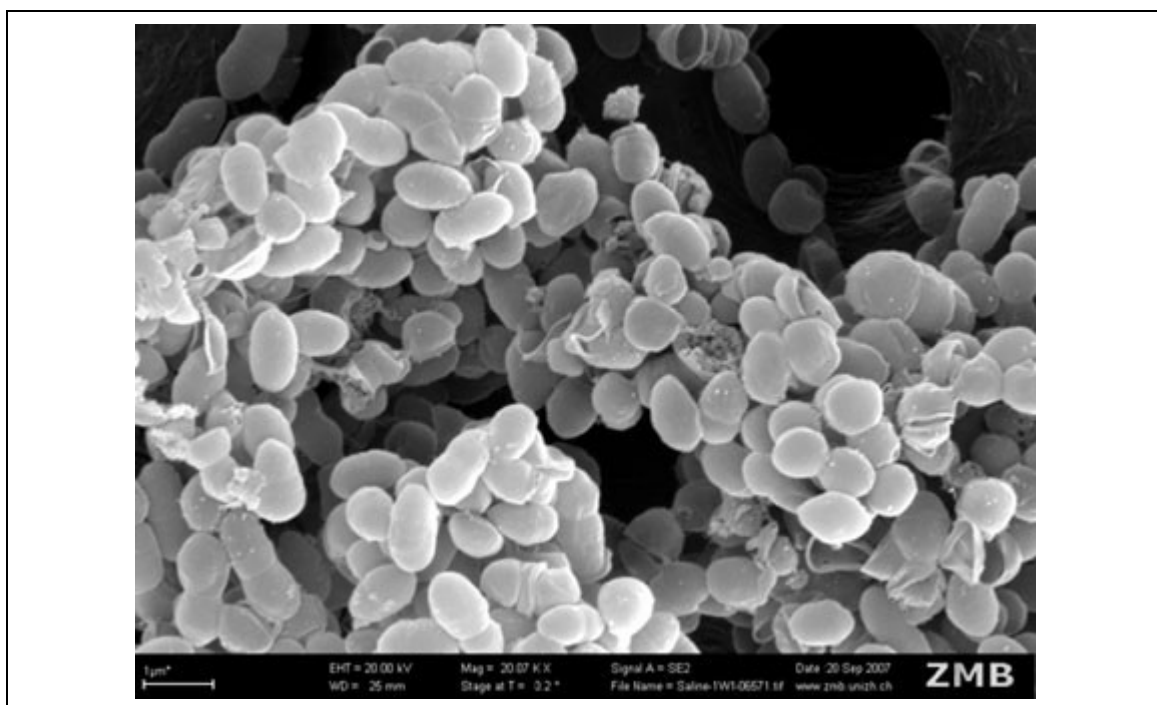


Abb. 3.4: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer *Enterococcus faecalis* Monokultur in Form eines Biofilms (Bildquelle: M. Zehnder, Universität Zürich).

In den letzten Jahren werden sie zunehmend als Erreger zum Teil schwerer nosokomialer Infektionen isoliert. Sie sind vor allem als Ursache für Harnwegsinfekte, Sepsis und Endokarditis zu finden. Amoxicillin und Ampicillin sind häufig zur antibiotischen Therapie geeignet. Gegen Cephalosporine und einige Penicilline besteht eine natürliche Resistenz. Besorgnis erregend ist das zunehmende Auftreten von Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE), von denen erstmals 1988 berichtet wurde.

In der Endodontie gilt dieser Keim schon lange als Problemkeim da er extremen Herausforderungen standhalten kann [Gomes et al. 2006, Kayaoglu et al. 2004]. Isoliert man infiziertes Gewebe aus einem Wurzelkanal, so dominiert der Anteil an fakultativ anaeroben Bakterien, zu welchen *Enterococcus faecalis* zählt [Molander et al. 1998, Peciulienė et al. 2000]. *Enterococcus faecalis* ist also grundsätzlich als Folge einer primär chronischen Infektion durch eine devitale Pulpa nachweisbar und trägt wesentlich zur Entstehung der apikalen Parodontitis bei [Sassone et al. 2007]. Desweiteren konnte nachgewiesen werden, dass auch in periapikalem Gewebe einer reinfizierten Wurzel nach bereits abgeschlossener Wurzelfüllung, erneut fakultativ anaerobe Keime vorhanden waren. In 77% der Fälle handelte es sich auch hier um *Enterococcus faecalis* [Siqueira et al. 2004, Gomes et al. 2008]. *Enterococcus faecalis* ist eines der resistentesten Mikroorganismen, das in infizierten Kanälen gefunden worden ist [Love 2001]. Seine Pathogenizität erstreckt sich von lebensbedrohlichen Krankheiten wie der Sepsis oder Perimyokarditis bis hin zu lokalisierten, einfacheren Infektionen, zu denen auch die chronische apikale Parodontitis zählt. Auch hier können allerdings lebensbedrohliche Folgen in Form von Abszedierungen im Kieferbereich mit Ausbreitungstendenzen entstehen. Die Toxizität von *Enterococcus faecalis* in Zusammenhang mit einer apikalen Parodontitis wird durch die Hyaluronidase, das lytische Enzym Gelatinase und die extrazelluläre Superoxid-Produktion verursacht. Einige der Substanzen sind Abfallprodukte der Bakterien, andere sind Produkte der Immunantwort des Wirts auf die Keime und wirken am Ort der Infektion [Kayaoglu et al. 2004].

## 4. Material und Methoden

### 4.1 Fragestellung und Hypothesen

Die desinfizierende Wirkung von ozoniertem Sauerstoff und vier weiteren Spüllösungen mit bekanntem antibakteriellen Wirkungsspektrum soll an dem Keim *Enterococcus faecalis* ermittelt und miteinander verglichen werden. Eine weitere Spüllösung dient als negative Kontrollgruppe. Es soll geklärt werden, ob ozonierter Sauerstoff eine gleichwertige Eliminierung von *Enterococcus faecalis* im Wurzelkanal erreicht wie die bekannten Spüllösungen.

### 4.2 Vorbereitung der Zähne

Das verwendete Versuchsmaterial bestand aus menschlichen Zähnen der zweiten Dentition. Vom Zeitpunkt der Extraktion bis zum Einsatz in der Studie lagen nicht mehr als 3 Monate. Die Lagerung der Zähne erfolgte in gesättigter Thymol-Lösung. Es wurden Zähne mit geraden Wurzeln selektiert. Sie wurden von der Krone abgesetzt und bis zu einer Größe von ISO 60 mit Handinstrumenten aufbereitet. Das apikale Ende der Wurzeln wurde um mindestens 3 mm abgesetzt, wodurch das Ende des Wurzelkanals weit offen stand. Alle Wurzeln wurden nunmehr auf eine Länge von 10 mm gebracht, kürzere Wurzeln wurden verworfen. Die Wurzeln wurden nun per Zufall auf die einzelnen Versuchsgruppen verteilt und in einer Petrischale im Autoklaven sterilisiert.

### 4.3 Versuchsdesign

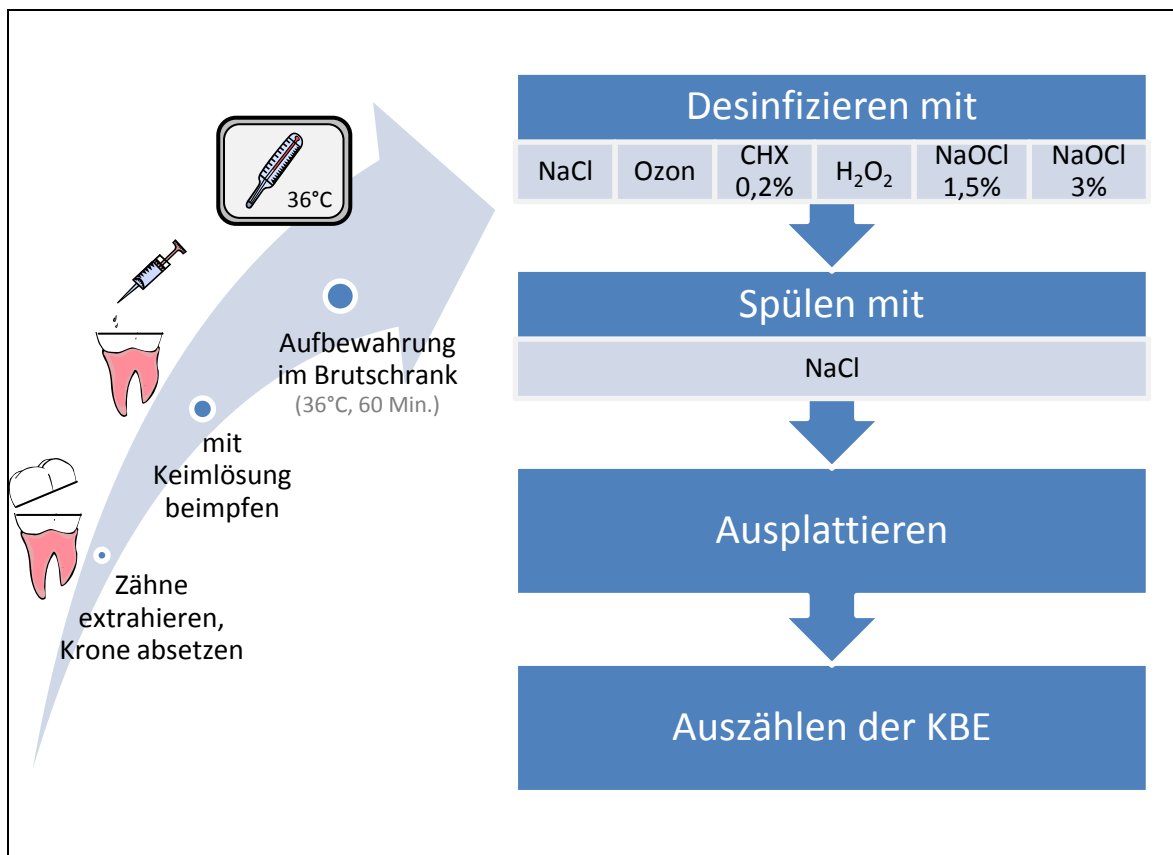


Abb. 4.1: Versuchsdesign

### 4.4 Herstellen der Keimlösung

Für die Infektion wurde der Keim *Enterococcus faecalis* gewählt, der im Bereich der Endodontie als Problemkeim gilt und in der Literatur für vergleichbare Studien herangezogen wurde [Kayaoglu, Örstavik 2004]. Von einer mit *Enterococcus faecalis* bewachsenen Agarplatte wurde mittels einer Öse ein Abstrich genommen und in eine Glukose-Nährlösung (RES) in einem Reagenzglas gegeben, welche den Enterokokken optimale Wachstumsbedingungen bietet. Dieses Röhrchen wurde für 24 Stunden bei 36 Grad Celsius im Brutschrank belassen damit sich die Keime bei optimalem Nahrungsangebot vermehren konnten.



Nach 24 Stunden war die Vermehrung der Keime in der Lösung schon makroskopisch, aufgrund der starken Trübung der Lösung, zu erkennen. Die Lösung wurde aus dem Brutschrank genommen und in eine Zentrifuge gelegt und anschließend bei 3000 Umdrehungen pro Minute 10 Minuten lang zentrifugiert. Der separierte keimlose Teil der Nährlösung wurde vorsichtig abgegossen und durch Mineralbasislösung ersetzt. Diese Lösung wurde für alle weiteren Versuche verwendet. Die Konzentration wird mittels einer Verdünnungsreihe auf 30.000.000 KBE/ml bestimmt.

#### 4.5 Infektion

Die Stammlösung wurde mit einer sterilen Insulinspritze aufgezogen. Die Zahnwurzeln wurden mittels dieser Insulinspritze mit einer Menge von 0.01ml der Stammlösung infiziert. Dieses geschieht durch Hineinführen der Spitze der Insulinspritze mit anschließender Abgabe der Lösung. Die Insulinspritze wurde aus dem Wurzelkanal wieder entfernt und die beimpften Wurzeln anschließend für eine Stunde in einer Petrischale im Brutschrank bei 36 °C aufbewahrt.



Abb. 4.2: Insulinspritze zur Applikation der Stammlösung

Die Wurzeln wurden anschließend aus dem Brutschrank entnommen und dann, mit Hilfe einer sterilen Pinzette, feuchtigkeits- und luftdicht zwischen zwei sterile Schlauchstücke montiert, so dass eine Spülung vom koronalen zum apikalen Teil möglich wurde. Die Wurzeln waren jetzt bereit zur Spülung des infizierten Wurzelkanals mit einer der betreffenden Desinfektionslösungen bzw. zur Ozonierung des Wurzelkanalsystems.

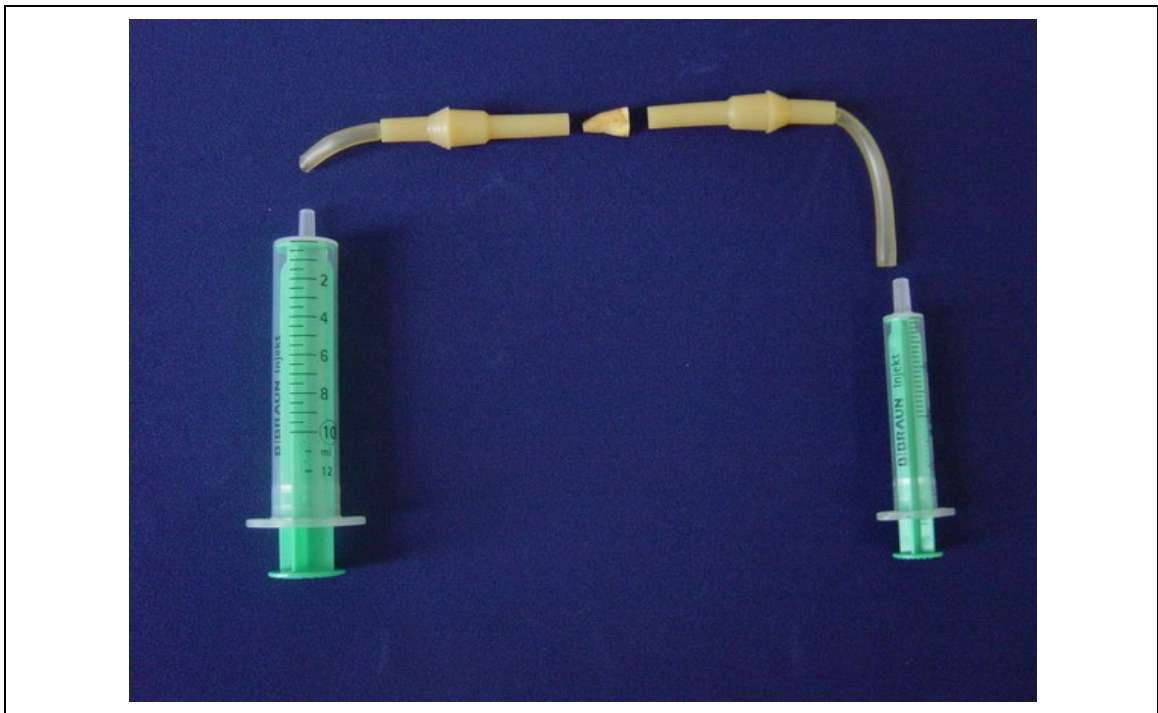


Abb. 4.3: Zwischen zwei Schlauchenden gespannte Wurzel bereit zur Spülung

#### 4.6 Gruppeneinteilung und Gruppengröße

Als Positivgruppe wurde eine Spülung mit 3%igem Natriumhypochlorit festgelegt, welches als Goldstandard anzusehen ist, bei der Negativgruppe wurde die Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung durchgeführt, welche als bekannt

unwirksames Präparat anzusehen ist. Weitere Vergleichsgruppen waren: 3%ige Wasserstoffperoxid-Lösung, 0,2%ige CHX-Lösung, 1.5%ige Natriumhypochlorit-Lösung.

Die Zahl der Versuche pro Gruppe wurde nach einem Vorversuch über eine statistische Fallzahlabschätzung bestimmt.

Die Wurzeln der negativen Kontrollgruppe wurden mit 1 ml steriler Kochsalzlösung durchgespült. Die Spüllösung wurde verworfen. Der Wurzelkanal wurde nun vorsichtig mit einer Papierspitze getrocknet. Anschließend erfolgte eine weitere Spülung mit 3 ml steriler Kochsalzlösung. Die Spüllösung wurde in einer Verdünnungsreihe pro Titerstufe um den Faktor 10 verdünnt, auf Agarplatten ausplattiert und 24 h bebrütet. Es folgt die Zählung der koloniebildenden Einheiten.

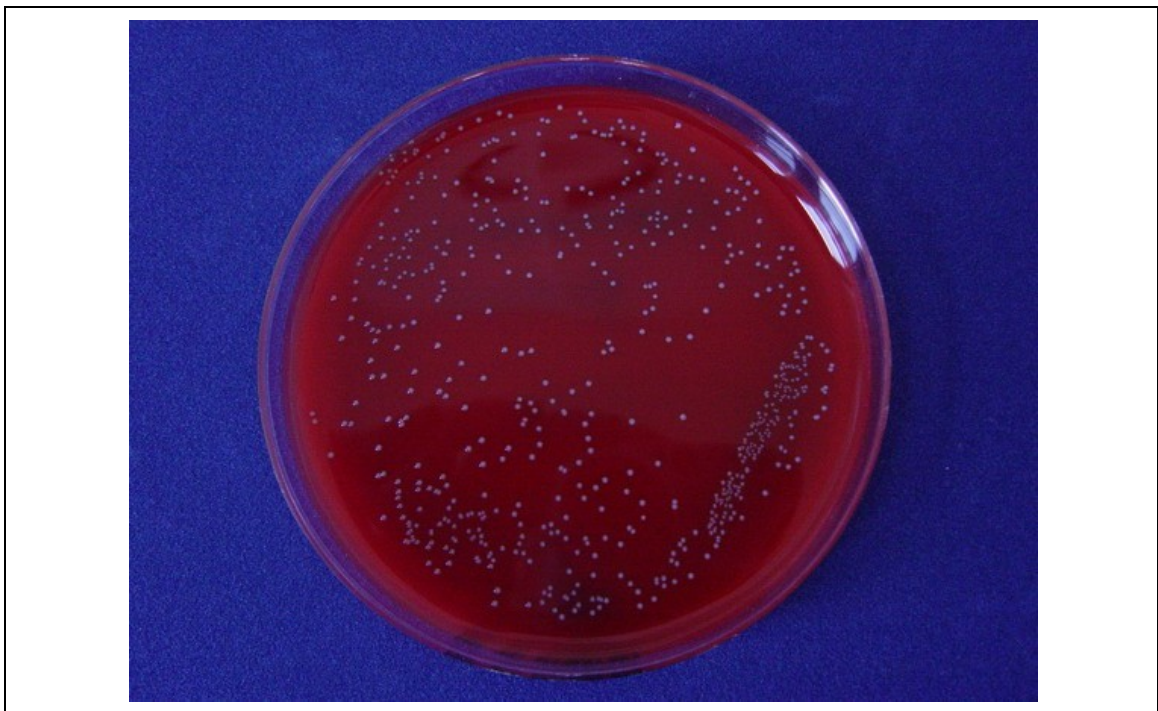


Abb. 4.4: Mit *Enterococcus faecalis*-Kolonien bewachsene Agarplatte

Die infizierten Wurzeln wurden mit 1ml der betreffenden Desinfektionslösung durchgespült. Anschließend erfolgte die Trocknung mit Papierspitze und die Spülung mit Kochsalzlösung zum Zwecke der Messung.

Die mit dem Probekeim infizierten Wurzeln wurden ebenfalls wie alle anderen Gruppen mit 1 ml steriler Kochsalzlösung durchgespült. Die Spüllösung wurde verworfen. Der Wurzelkanal wurde nun vorsichtig mit einer Papierspitze getrocknet. Anschließend erfolgte die Begasung mit Ozon aus dem HealOzone®-Generator der Fa. KaVo. Das koronale Ende des Zahnes wurde über den Schlauch an den Ozonauslass angeschlossen, das apikale Ende wurde an den Vakuumananschluss angekoppelt, sodass ein geschlossener Kreislauf entstand.



Abb. 4.5: Ozonapplikation der Zahnwurzel mittels des HealOzone®-Generators

Der HealOzone®-Generator wurde eingeschaltet und es erfolgte eine Ozonierung der Wurzeln für 3x40 Sekunden. Nach Beendigung der Ozonierung wurden die Schlauchstücke abgestülpt und es erfolgte erst die Trocknung mit Papierspitze und

anschließend die Spülung mit Kochsalzlösung, zum Zwecke der Gewinnung einer Messlösung. Diese Messlösung wurde auf Agarplatten wieder mittels einer Öse ausplattiert. Diese Agarplatten kamen für 24 Stunden bei 36°C in den Brutschrank. Anschließend wurden die gebildeten Kolonien ausgezählt.

## 4.7 Statistik

Die Statistik wird in Abhängigkeit vom vorliegenden Verteilungsmuster mit den hiernach indizierten Methoden durchgeführt. Als Signifikanzniveau wird  $p=0.05$  festgesetzt.

## 5. Vorversuche

Für einen Vorversuch werden drei Gruppen gebildet: Desinfektion mit Natriumhypochlorit, Desinfektion mit Ozongas und negative Kontrollgruppe (reine Spülung mit Kochsalzlösung). Der Vorversuch dient zur Feinabstimmung der Methode, sowie zur Fallzahlbestimmung für die Hauptversuche. Es wird festgelegt, dass die Ergebnisse des Vorversuchs nicht in die Hauptversuche übernommen werden.

### 5.1 Ergebnisse des Vorversuchs

Versuchsnummer	Gruppe	Bakterienkonz. nach Versuch in KBE/ml
1	Kochsalz	300000
2	Kochsalz	300000
3	Kochsalz	500000
4	Kochsalz	400000
5	Ozon	4000
6	Ozon	4500
7	Ozon	5500
8	Ozon	4500
9	Natriumhypochlorit	0
10	Natriumhypochlorit	0
11	Natriumhypochlorit	0
12	Natriumhypochlorit	0

Tab. 5.1: Einzelergebnisse des Vorversuchs.

Statistisch ergibt sich nach deskriptiver Auswertung folgendes Bild:

Gruppe	Mittelwert (KBE)	Standardabw.	n
Kochsalz	375000	95750	4
Ozon	4625	630	4
Natriumhypochlorit	0	0	4

Tab. 5. 2: Statistische Auswertung (deskriptiv).

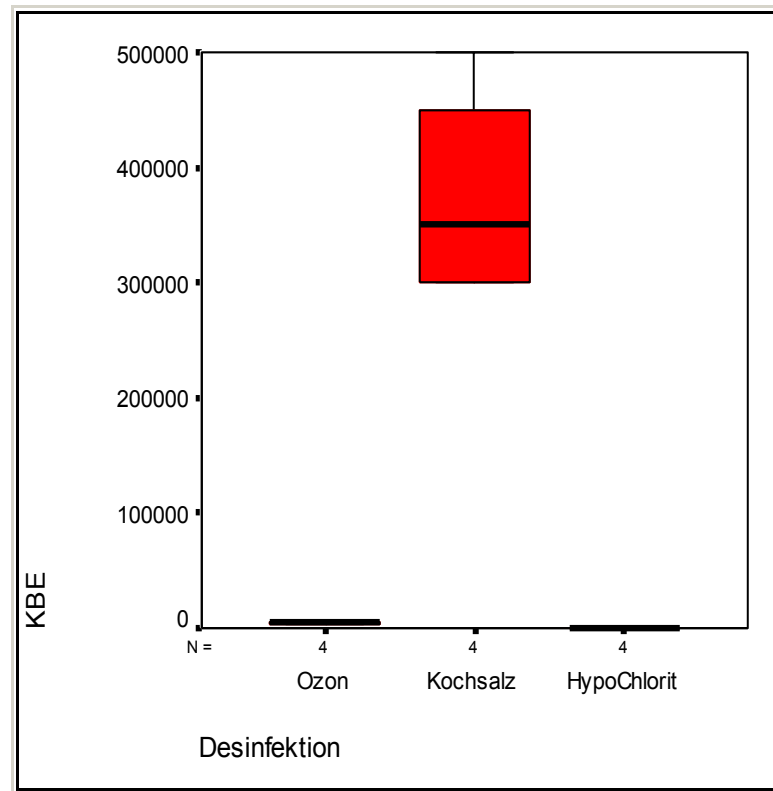


Abb. 5.1: Median und 50%-Quantile der Versuchsgruppen aus dem Vorversuch



## 5.2 Interpretation der Ergebnisse

Im Vergleich zur negativen Kontrollgruppe zeigt sich bei beiden Desinfektionsmethoden ein deutlich sichtbarer Effekt. Die Standardabweichungen sind im Vergleich zum Mittelwert um den Faktor 5-10 niedriger. Der Versuchsaufbau ist also hinreichend um den Desinfektionseffekt zu messen. Eine einfaktorielle Varianzanalyse ermittelt einen höchstsignifikanten Unterschied innerhalb des Modells. Im Post-Hoc Test nach Scheffe bilden die Gruppen Ozon und Natriumhypochlorit eine homogene Gruppe ( $p < 0.05$ ).

## 5.3 Fallzahlenabschätzung

Bei Annahme von Varianzhomogenität und Normalverteilung wären bei Verwendung eines zweiseitigen t-Tests mit einer Power von 0.8 und einem Alpha-Fehler von 0.05 zum Vergleich der Gruppen Ozon/Kochsalz  $n=2$  Versuche notwendig. Für einen Vergleich der Gruppe Hypochlorit mit Ozon wäre rechnerisch bereits ein  $n$  von 1 ausreichend. Um im Vergleich zur Gruppe Ozon eine fiktive Vergleichsgruppe mit einem um 20% höheren Mittelwert als signifikant unterschiedlich zu testen, wäre ein  $n$  von 9 notwendig.

Für das vorliegende Versuchsdesign wurde daher  $n=10$  festgelegt.



## 6. Ergebnisse

Insgesamt wurden 6 Gruppen mit jeweils 10 Zähnen (n=10) bearbeitet. Eine deskriptive statistische Analyse ergab folgende Werte:

Gruppe	n	Ausgangskonz. (KBE)	Mittelwert (KBE)	Standardabw.
NaCl	10	30.000.000	280.000	209.761
Ozon	10	30.000.000	14.300	12.293
CHX 0,2%	10	30.000.000	14.500	12.083
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%	10	30.000.000	10.100	3.956
Hypochlorit 1,5%	10	30.000.000	24.100	14.880
Hypochlorit 3%	10	30.000.000	0	0

Tab. 6.1: Statistische Auswertung (deskriptiv).

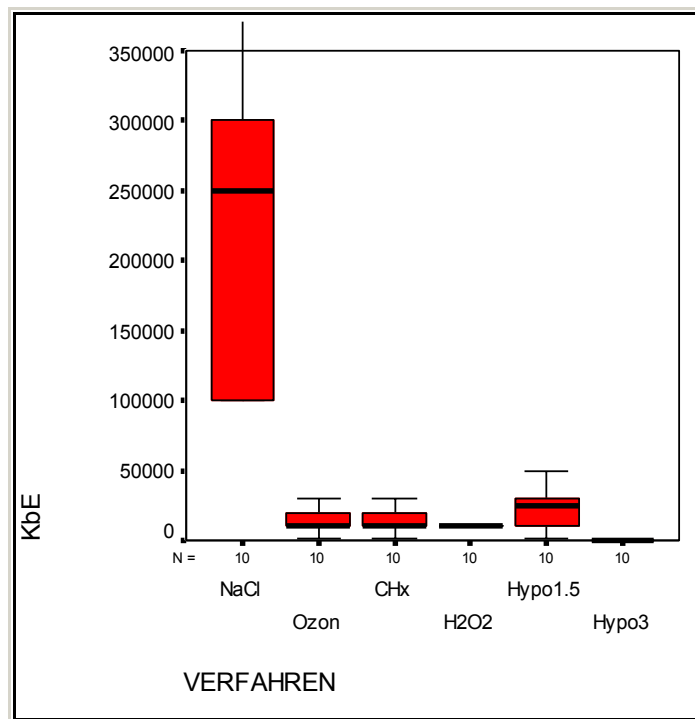


Abb. 6.1: Statistische Auswertung (deskriptiv). Boxplot der Gruppen (Median & Quantile)

Abgesehen von der positiven Kontrollgruppe mit dem einheitlichen Wert 0 sind alle Gruppen normalverteilt (Kolmogoroff-Smirnov Test,  $p=0.05$ ). Eine Varianzhomogenität konnte im Levene-Test ( $p=0.05$ ) jedoch nicht gefunden werden. Damit sind die Grundbedingungen für eine Varianzanalyse nicht gegeben. Es wurden daher verteilungsfreie Tests zum Vergleich der Gruppen herangezogen.

## 6.1 Vergleich aller Gruppen hinsichtlich des Mittelwertes.

Für den Vergleich der Gruppen wurde der Test nach Kruskal-Wallis auf einem Signifikanzniveau von  $p=0.05$  herangezogen. Berechnet wurde dieser Test zunächst für alle Gruppen. Ein Testergebnis von  $p<0.001$  bedeutet hier, dass mindestens eine Gruppe im Vergleich zu den übrigen Gruppen einen statistisch signifikant unterschiedlichen Mittelwert hat. Ein Vergleich der Mittelwerte (Tab. 6.1) zeigt, dass hierfür die Kontrollgruppen in Frage kommen. Es wurde daher der Test nach Kruskal-Wallis für alle Gruppen ohne die negative Kontrollgruppe und alle Gruppen ohne beide Kontrollgruppen wiederholt. Das Ergebnis der Tests zeigt Tabelle 6.2:

Gruppe	Kruskal-Wallis (p)
Alle	<0,001
Alle, ohne NaCl	<0,001
Alle, ohne NaCl und Hypo 3%	0,123

Tab. 6.2: Statistische Auswertung (deskriptiv).

Das Testergebnis zeigt, dass es hier drei homogene Gruppen gibt. Die Kontrollgruppen sind statistisch signifikant unterschiedlich zu den übrigen Gruppen, die Versuchsgruppen bilden zusammen eine homogene Gruppe.

## 6.2 Post-Hoc Vergleiche zwischen den Gruppen

Da es im nichtparametrischen Fall kein Verfahren gibt, welches einer Varianzanalyse entspricht, wurden paarweise Vergleiche mit dem Test nach Mann-Whitney auf einem Signifikanzniveau von 0.05 durchgeführt. Das Ergebnis dieser Tests zeigt Tabelle 6.3:

Gruppe	Mittelw. (KBE)	NaCl	Hypo 1,5%	CHX 0.2%	Ozon	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%	Hypo 3%
NaCl	280.000		<0,001 ***	<0,001 ***	<0,001 ***	<0,001 ***	<0,001 ***
Hypo 1,5%	24.100			0,130 n.s.	0,130 n.s.	0,017 *	<0,001 ***
CHX 0,2%	14.500				0,968 n.s.	0,550 n.s.	<0,001 ***
Ozon	14.200					0,550 n.s.	<0,001 ***
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%	10.100						<0,001 ***
Hypo 3%	0						

Tab. 6.3: Statistische Auswertung. Paarweise Vergleiche mit dem Test nach Mann-Whitney (p=0.05).

Hier zeigen sich die Kontrollgruppen NaCl und NaOCl 3% signifikant unterschiedlich zueinander und zu den Testgruppen. Innerhalb der Testgruppen mit CHX 0,2 %, NaOCl 1,5%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% gibt es lediglich einen signifikanten Unterschied zwischen Natriumhypochlorit 1,5% und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Alle anderen Testgruppen sind gleich bzw. nicht signifikant. Daraus ergibt sich, dass NaCl als Negativgruppe (bekannt unwirksames Präparat) signifikant unterschiedlich ist, da es keinerlei bakterizide Wirkung zeigte. Ebenso signifikant unterschiedlich ist das NaOCl 3% als eine Positivgruppe (bekannt wirksames Präparat bzw. Goldstandard), indem es sich als am besten wirksam darstellt. Bei den Testgruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied, da die Werte alle größer sind als 0.05. Demnach kann aus dieser Tabelle

abgeleitet werden, dass die Testgruppen bis auf NaOCl 1,5 % und 3% alle eine ähnliche Wirksamkeit haben.

## 7. Diskussion

Es wurde bereits häufig belegt, dass Infektionen im Bereich des Wurzelkanalsystems durch Bakterien hervorgerufen werden [Sassone et al. 2007]. Ein typischer Keim, welcher häufig im infizierten Wurzelkanal nachgewiesen wird und als Problemkeim gilt, ist der *Enterococcus faecalis* [Kayaoglu et al. 2004; Fidgor, Sundquist 2007]. Der wichtigste Schritt zur vollständigen Dekontamination des endodontischen Hohlraumsystems und der angrenzenden Kompartimente bei einer Infektion des Wurzelkanals ist das ausgiebige Aufbereiten des Wurzelkanalsystems. Dies geschieht mit Hilfe von Wurzelkanalinstrumenten sowie einer anschließenden Spülung mit desinfizierenden Lösungen. Als Standard bei der Desinfektion eines infizierten Wurzelkanals in der Praxis gilt die Verwendung flüssiger Spüllösungen im Wurzelkanal. Dabei handelt es sich meistens um CHX und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in unterschiedlichen Konzentrationen sowie das als Goldstandard geltende NaOCl in den Konzentrationen 0,5%-5%ig. Der Einsatz von Ozon in der Endodontie wurde bereits in den 50er Jahren von E.A. Fisch beschrieben, welcher sehr erfolgreich gangränöse Zähne mit Ozon behandelte und somit eine der ersten Informationsquellen zum Thema Ozon in der Endodontie darstellt [E. A. Fisch 1955]. Anhand der großen Nachfrage nach minimalinvasiven Therapien in der Zahnheilkunde und dem erfolgreichen Einsatz von Ozon in der Kariestherapie, stellt sich die Frage, ob dieses Modell auch in der Behandlung von infizierten Wurzelkanälen eingesetzt werden kann.

Die vorliegende Studie beschäftigt sich mit der Frage, ob Ozon eine mögliche Alternative zur herkömmlichen Spülung des Wurzelkanalsystems mit flüssigen Spülagenzien bietet. Sie soll die alternative Behandlung mit Ozon zur Desinfektion im infizierten Wurzelkanal gegenüber den flüssigen Spüllösungen kritisch durchleuchten um herauszustellen, ob die Desinfektion mit Ozon sinnvoll und praktisch in der Endodontie eingesetzt werden kann.

Ziel der Arbeit ist es, die desinfizierende Wirkung des Ozongases zu ermitteln und diese mit den konventionellen flüssigen Spüllösungen zu vergleichen. Dies erfordert ein möglichst praxisnahes Modell, welches hier sowohl durch den Einsatz von menschlichen Zähnen der zweiten Dentition, als auch durch die Verwendung des Keimes *Enterococcus faecalis* gegeben worden ist. Mit Hilfe von diesen Ergebnissen sollen Hinweise und Informationen für die weitere technische Entwicklung und den langfristigen Einsatz von Ozon in der Endodontie gegeben werden.

Für diese in vitro Evaluation wurde ein Studienmodell nach den Aspekten der Zahnerhaltung in Zusammenarbeit mit der Mikrobiologie ausgewählt. D.h. es wurden menschliche Zähne der zweiten Dentition verwendet, welche mit Hilfe von Wurzelkanalinstrumenten aufbereitet und anschließend mit dem zu untersuchenden Keim beimpft wurden, um eine Infektion zu imitieren. Die Auswahl des Keimes *Enterococcus faecalis* erfolgte aufgrund von dessen besonderen Eigenschaften und Vorkommen bei endodontischen Infektionen [Kayaoglu et al. 2004, Siren et al. 2004; Fidgor, Sundquist 2007, Sassone et al. 2007]. *Enterococcus faecalis* ist zudem einfach zu züchten. Dieser Keim ist auf Agar-Platten anzüchtbar und bedarf keiner Isolierung mit Hilfe der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR).

Bereits in vielen Studienmodellen findet sich ein Versuchsaufbau mit ähnlicher Anordnung der zu untersuchenden und zu vergleichenden Spülagenzien [Haapasalo, Örstavik 1987, Siqueira et al. 1997]. In aktuellen Studien wird die Effektivität von den zu untersuchenden Spüllösungen versus gasförmiger Desinfektion belegt und mit ähnlichen Versuchsabläufen dargestellt, wobei z. Bsp. beimpfte Biofilm-Proben Ozon aus einem Ozongenerator ausgesetzt wurden und ebenfalls mit herkömmlichen Spüllösungen wie 2%iges Chlorhexidin und Natriumhypochlorit 0,5% und 5% gespült, anschließend auf Blut-Agar Platten ausplattiert und ausgezählt. CHX und Natriumhypochlorit dienten hierbei als positive Kontrollgruppen und die negative Gruppe wurde von unbehandelten Proben gestellt. Es wurde bei dieser Studie gezeigt, dass die mit 5%igem Natriumhypochlorit behandelte Probe völlige Keimfreiheit zeigte

und dass die Behandlung mit Ozongas der Biofilm-Probe zwar effektiv war, jedoch in einem deutlich geringeren Maß [Müller et al. 2007].

Die vorliegende Arbeit besitzt ein vergleichbares Versuchsdesign, mit dem Unterschied, dass Natriumhypochlorit 3% als positive Kontrollgruppe am besten wirksam ist, jedoch Ozon als gleichwertiges Mittel zur Desinfektion im Wurzelkanal mit den übrigen Kontrollgruppen eingesetzt werden kann. Nur der bekannte Goldstandard (NaOCl 5%) ist dem überlegen.

Die Ergebnisse zeigen, dass das verwendete Verfahren geeignet ist, Unterschiede zwischen den Desinfektionsmitteln festzustellen. Die negative Kontrollgruppe wird hier klar mit deutlich negativen Ergebnissen verifiziert. Die positive Kontrollgruppe mit hoher Konzentration des Natriumhypochlorits wird ebenfalls als positiv gemessen. Die extremen Werte und die für die statistische Auswertung ungünstige Verteilung sind hierbei auf die Messung in der Verdünnungsreihe zurückzuführen. Zwischen den Prüfgruppen gibt es hier nur geringe Unterschiede. Lediglich das Natriumhypochlorit mit 1,5% hat hier ein geringfügig schlechteres Ergebnis, das sich im Test innerhalb der Prüfgruppe nur zum  $\text{H}_2\text{O}_2$  3% als signifikant ( $p=0,017$ ) zeigt.

Die Ozonbehandlung zeigt sich im Vergleich zur negativen Kontrollgruppe als wirksam ( $p<0,001$ ) und zu den übrigen Prüfgruppen als gleichwertig ( $p>0,05$ ). Lediglich die positive Kontrollgruppe mit dem 3%igem Natriumhypochlorit ist allen übrigen Verfahren überlegen ( $p>0,001$ ).

Für die klinische Anwendung ist hieraus zu schließen, dass eine Spülung mit hoher Konzentration an Natriumhypochlorit hinsichtlich der desinfizierenden Wirkung zu empfehlen ist. Zur Verwendung in Situationen, in welchen nicht mit hochkonzentriertem Natriumhypochlorit gearbeitet werden darf, wenn z. Bsp. kein Kofferdamm gelegt werden kann, eignen sich die Alternativpräparate. Ozon zeigt hierbei eine gleichwertige Wirkung und bietet auch dann eine wichtige Alternative,

wenn während einer Wurzelbehandlung gänzlich auf die herkömmlichen Spülvorrichtungen wie Spritze und Kanüle verzichtet werden muss. Diese Situationen ergeben sich z. Bsp. aus intraoralen Sicherheitsaspekten bei Patienten mit Epilepsie, geistig behinderten Patienten oder Kindern. Die sehr einfache Anwendung des Ozongenerators macht eine komfortable Behandlung sowohl für den Patienten als auch für den Behandler möglich. Eine minimalinvasive Vorgehensweise, vor allem bei zahnärztlichen Behandlungen, hat in den letzten Jahren immer mehr an Interesse und Bedeutung zugenommen und besteht schon seit der Einführung der Lasertherapie in der zahnärztlichen Praxis. Die Einführung und Entwicklung weiterer Techniken hinsichtlich minimalinvasiver Therapiemöglichkeiten ist demnach von großem Interesse sowohl für die Forschung, als auch für den Patienten [Baysan, Lynch 2005]

Der Einsatz von Ozon wurde schon bei der Behandlung von initialen kariösen Läsionen angewandt und positiv bestätigt. Hierbei wurde immer mit einem Fluoridierungsset für den Patienten zur Unterstützung der Behandlung gearbeitet. Eine Doppelblind-Studie bestätigte die Wirksamkeit dieser Vorgehensweise. Nach zwölf Monaten waren 98% der kariösen Läsionen ausgeheilt [Holmes 2003]. Denn in der Kariestherapie wurde Ozon sehr erfolgreich als desinfizierendes Medium gegen kariogene Bakterien eingesetzt [Baysan et al. 2000]. In zahlreichen Studien wurde belegt, dass bei beginnenden kariösen Schmelzdefekten, welche von Bakterien wie *Streptococcus mutans* verursacht werden, diese Keime durch die Ozonbedampfung vernichtet wurden und damit die beginnende oder die bereits aktive kariöse Läsion größtenteils rückgängig gemacht worden ist [Baysan, Lynch 2007].

Ein wichtiger Vorteil von gasförmigen Agenzien ist, dass diese in alle Bereiche des Wurzelkanalsystems gelangen, auch in die schwer zugänglichen Areale, welche vor allem bei mehrwurzeligen Zähnen ein großes Problem darstellen. Die Oberflächenspannung von Flüssigkeiten kann in den Wurzelkanälen dazu führen, dass nicht alle Bereiche, zum Beispiel akzessorische Kanäle, von den flüssigen Spüllösungen erreicht werden. Diese Gefahr besteht bei der Verwendung von gasförmigen Desinfektionsmitteln, z. Bsp. bei der Verwendung von Ozon, nicht. Ozongas eliminiert



auch die Keime im Biofilm [Müller et al. 2007] und dabei gibt es keinerlei Nebenwirkungen [Baysan, Lynch 2004]. Ein weiterer Vorteil vor allem für den praktizierenden Behandler in der Praxis, ist die einfache Handhabung bei dieser Form der Wurzelkanal desinfektion. Das zeitaufwendige Aufziehen der Spüllösungen in Einmalkanülen entfällt, wodurch nicht nur Zeit sondern auch Material eingespart werden kann. Das einzige was bei dem Ozongenerator ausgetauscht werden muss sind die Silikon-Aufsätze. Auch kann es zu keinem Überstopfen bzw. Überspritzen der flüssigen Spüllösung ins umliegende Gewebe kommen, wodurch Nebeneffekte wie die Ausbildung eines Emphysems bei Überpressen mit Wasserstoffperoxid ausgeschlossen werden können. Die Anwendung des Ozongases zur Desinfizierung bei der Wurzelkanalbehandlung nimmt deutlich weniger Zeit in Anspruch. Bei der Desinfektion mit 3%igem NaOCl wird eine Spüldauer von ca. 30 Minuten zur vollständigen Keimeliminierung und vollständigen Auflösung von nekrotischem Gewebe empfohlen [Spratt et al. 2001]. Es muss allerdings darauf hingewiesen werden, dass nur Natriumhypochlorit in der Lage ist, nekrotisches Gewebe aufzulösen [Okino et al. 2004]. Diese Eigenschaft wird beim Ozon nicht geboten. Ozon kann als Ergänzungstherapie zum Natriumhypochlorit oder als alleinige Therapie zum Einsatz kommen, wenn das Auflösen von Gewebe nicht erforderlich ist. Dies ist abhängig davon, ob es sich um eine sehr hartnäckige Infektion, wie z. Bsp. um eine eitrige Pulpitis handelt. In der Kombinationstherapie jedoch kann Ozon als gleichwertige Alternative zu allen Testgruppen eingesetzt werden mit den oben genannten Vorteilen.

Die vorliegende Studie bestätigte diese Ergebnisse bei der positiven Kontrollgruppe. Für die einzelnen Kontrollgruppen konnte gezeigt werden, dass jeweils eine ähnlich lange Spüldauer angezeigt war. Bei dem Einsatz von Ozon wurde jeweils 3x40 Sekunden lang desinfiziert, was eine wesentlich kürzere Zeitspanne ausmacht. Die Ergebnisse der Testgruppen zeigen jedoch trotz der deutlich kürzeren Dauer bei der Behandlung mit Ozon keine signifikanten Unterschiede bei der Wirksamkeit. Bei den Testgruppen ergab sich kein signifikanter Unterschied im Vergleichs-Test nach Mann-Whitney (Werte alle größer 0.05, s. Tabelle 6.3). Demnach kann aus diesen

Ergebnissen abgeleitet werden, dass die Testgruppen, bis auf Hypo 1,5 % und 3%, alle eine gleichwertige desinfizierende Wirksamkeit besitzen.

Das wachsende Interesse am Einsatz von Ozon in der Medizin und Zahnmedizin bestätigt außerdem die Effektivität dieser Art der minimalinvasiven Behandlung, von sowohl den klassischen kariösen Defekten, als auch dem in dieser Studie vorliegendem Modell der Desinfektion von infizierten Wurzelkanälen. Der effektive und sinnvolle Einsatz von Ozon in der Zahnheilkunde wird in zunehmendem Maße bewusst und in Zukunft noch verstärkt in den Vordergrund rücken [Baysan, Lynch 2005]. Dieser Aspekt sollte auch in weiteren Studien ausgeweitet werden mit z. Bsp. zusätzlichen Einrichtungen wie einer an dem Winkelstück des Ozongenerators angebrachten speziellen dünnen Kanüle, welche direkt in den Wurzelkanal eingebracht werden kann, um herauszufinden, ob eine noch effektivere Desinfektion erreicht werden kann, wenn die Kanüle von Anfang an direkt an den Apex geführt wird. Von dort aus wäre der Weg zum Ort der Infektion noch kürzer (bei einer apikalen Parodontitis). Eine Alternative zu den genannten Spüllösungen ist die Behandlung von infizierten Wurzelkanälen mit ozoniertem Wasser. Jedoch muss von vornherein darauf hingewiesen werden, dass dafür eine aufwendigere Apparatur erforderlich ist, weil das Ozon im Wasser nur eine geringe Halbwertszeit (die Halbwertszeit beträgt ca. 30 Minuten) hat und somit nicht lagerfähig ist. Das zu verwendende, mit Ozon versehene Wasser muss kurz zuvor frisch aufbereitet werden. Dies stellt für die Arbeitsapparatur in einem Labor zu Studienzwecken keine allzu große Problematik dar, in der Praxis jedoch wäre es allerdings sehr viel aufwändiger. In Anbetracht dessen erweist sich die Apparatur eines Ozongenerators, wie dem des HealOzone®, als einfacher und praktischer zu handhaben. Das Gerät wiegt nur einige Kilo und hat geringe Maße. Als ein Nachteil sind sicherlich die hohen Anschaffungskosten eines Ozongenerators zu erwähnen. Die Abrechnung einer Behandlung fällt unter die Privatleistung nach der Gebührenordnung für Zahnärzte, auch für gesetzlich versicherte Patienten. Somit muss die Frage gestellt werden ob, je nach Patientenkollektiv, der Einsatz eines Ozongenerators aus finanziellen Gründen wirtschaftlich ist.

Abschließend kann gesagt werden, dass die vorliegende Arbeit die gleichwertige Wirksamkeit der Ozontherapie im Vergleich zu herkömmlichen Spüllösungen in der Endodontie belegt, verschieden dargelegte Nachteile bremsen aktuell jedoch noch einen umfangreichen Einsatz in der Praxis. Weitere Forschung und Studienergebnisse zum Ozon in der zahnmedizinischen Endodontie sind notwendig und sinnvoll. Insbesondere wäre eine Langzeitstudie von Interesse, in welcher Zähne untersucht werden, die eine abgeschlossene Wurzelbehandlung mit Wurzelfüllung aufweisen, nach einer vorhergegangenen Desinfektion des infizierten Wurzelkanals mit flüssigen Spüllösungen im Vergleich zu einer vorhergegangenen Desinfektion mit Ozon allein. Aus einer solchen Studie könnten sicher viele weitere Ergebnisse und Aussagen für den Einsatz von Ozon zur Desinfektion im Wurzelkanal geliefert werden. Eine weitere aktuelle Studie hat die Kosteneffizienz mit einem Ozongenerator (HealOzone®/CurOzone® USA Inc., Canada) gegenüber den herkömmlichen, im Praxisalltag laufenden Kosten der Behandlung einer Fissuren- bzw. Wurzelkaries betrachtet. Das Ergebnis zeigte, dass noch keine ausreichend belegten Aussagen zu diesem Thema gemacht werden können, da noch weitere Studien mit einem adäquaten Design und statistischen Analysen erforderlich sind, um Details bezüglich der Kosteneffizienz durchführen zu können [[Brazzelli et al. 2006](#)].

## 8. Zusammenfassung und Summary

### 8.1 Zusammenfassung

**Ziel** – Das Ziel dieser Studie war es, die desinfizierende Wirkung von ozoniertem Sauerstoff (120 Sekunden mit dem HealOzone-Generator, KaVo) auf *Enterococcus faecalis*, welcher stellvertretend für schwer zu beseitigende Bakterien in den Wurzelkanälen der menschlichen Zähne steht, zu ermitteln. Die desinfizierende Wirkung des Ozons soll mit den folgenden konventionellen Desinfektionsmitteln verglichen werden: sterile physiologische Natriumchlorid-Lösung (negative Kontrollgruppe), 3%ige Wasserstoffperoxid-Lösung, 0,2%ige Chlorhexidin-Lösung, 1,5%ige Natriumhypochlorit-Lösung und 3%ige Natriumhypochlorit-Lösung (positive Kontrollgruppe).

**Material und Methoden** - Die Wurzelkanäle (n = 10 in jeder Gruppe) wurden sterilisiert, mit den quantitativ aufbereiteten Mikroorganismen kontaminiert, anschließend mit den Test-Lösungen gespült und getrocknet. Die verbleibende Konzentration von *Enterococcus faecalis* wurde durch ein erneutes Spülen der Kanäle mit Natriumchlorid-Lösung und nachfolgendem Ausplattieren auf Nährmedien bestimmt.

**Ergebnis** - Die positive Kontrollgruppe zeigte eine signifikant niedrigere Konzentration von Mikroorganismen als alle anderen Gruppen, wohingegen die negative Kontrollgruppe eine deutlich höhere Konzentration im Vergleich zu den anderen Gruppen zeigte. Die Test-Gruppen zeigten jeweils niedrige Konzentrationen.

**Konklusion** - Ozonierter Sauerstoff scheint geeignet für die Desinfektion der Wurzelkanal-Systeme in Fällen, in denen Natriumhypochlorit nicht indiziert ist.

## 8.2 Summary

**Objectives** - To determine the disinfecting effect of ozonized oxygen (120 seconds from the HealOzone generator, KaVo) on *Enterococcus faecalis*, representing bacteria that are difficult to eliminate in the root canals of human teeth, and to compare it with the conventional irrigants: sterile physiologic sodium chloride solution (negative control group), 3% hydrogen peroxide solution, 0.2% chlorhexidine solution, 1.5% sodium hypochlorite solution, and 3% sodium hypochlorite solution (positive control group).

**Method and materials** - The roots (n = 10 in each group) were sterilized, contaminated with the test microorganisms in a quantitative preparation, rinsed with the test solutions, and dried. The residual concentration of *E. faecalis* was determined through another irrigation stage with the sodium chloride solution.

**Results** - The positive control group showed a significantly lower concentration of microorganisms than all the other groups, whereas the negative control group showed a significantly higher concentration compared to the other groups. The test groups showed low concentrations.

**Conclusion** - Ozonized oxygen appears to be suitable for disinfecting root canal systems in cases where sodium hypochlorite is not indicated.

## 9. Literaturverzeichnis

1. Abdullah M, Ng YL, Gulabivala K, Moles DR, Spratt DA.  
Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications.  
J Endod. 2005 Jan;31(1):30-6.
2. Andersen M, Lund A, Andreasen JO, Andreasen FM.  
In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite.  
Endod Dent Traumatol. 1992 Jun;8(3):104-8.
3. Arruda M, de Arruda MP, de Carvalho-Júnior JR, de Souza-Filho FJ, Sousa-Neto MD, de Freitas GC.  
Removal of the smear layer from flattened canals using different chemical substances.  
Gen Dent. 2007 Nov-Dec;55(6):523-6.
4. Attin T, Buchalla W, Zirkel C, Lussi A.  
Clinical evaluation of the cleansing properties of the noninstrumental technique for cleaning root canals.  
Int Endod J. 2002 Nov;35(11):929-33.
5. Ayhan H, Sultan N, Cirak M, Ruhi MZ, Bodur H.  
Antimicrobial effects of various endodontic irrigants on selected microorganisms.  
Int Endod J. 1999 Mar;32(2):99-102.
6. Barbosa CA, Gonçalves RB, Siqueira JF Jr, De Uzeda M.  
Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine, and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study.  
J Endod. 1997 May;23(5):297-300.
7. Bargholz, Hör, Zirkel  
Praxisleitfaden Endodontie  
Urban & Fischer bei Elsevier, 1. Auflage, 2006
8. Barthel CR, Zimmer S, Zilliges S, Schiller R, Göbel UB, Roulet JF.  
In situ antimicrobial effectiveness of chlorhexidine and calcium hydroxide: gel and paste versus gutta-percha points.  
J Endod. 2002 Jun;28(6):427-30.

9. Bassetti C, Kallenberger A.  
Influence of chlorhexidine rinsing on the healing of oral mucosa and osseous lesions.  
J Clin Periodontol. 1980 Dec;7(6):443-56.
10. Baumgartner JC, Ibay AC.  
The chemical reactions of irrigants used for root canal debridement.  
J Endod. 1987 Feb;13(2):47-51.
11. Baysan A, Lynch E.  
Clinical reversal of root caries using ozone: 6-month results.  
Am J Dent. 2007 Aug;20(4):203-8.
12. Baysan A, Lynch E.  
Effect of ozone on the oral microbiota and clinical severity of primary root caries.  
Am J Dent. 2004 Feb;17(1):56-60.
13. Baysan A, Lynch E.  
The use of ozone in dentistry and medicine.  
Prim Dent Care. 2005 Apr;12(2):47-52.
14. Baysan A, Whiley RA, Lynch E.  
Antimicrobial effect of a novel ozone- generating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in vitro.  
Caries Res. 2000 Nov-Dec;34(6):498-501.
15. Bloml f J, Bloml f L, Lindskog S.  
Effect of different concentrations of EDTA on smear removal and collagen exposure in periodontitis-affected root surfaces.  
J Clin Periodontol. 1997 Aug;24(8):534-7.
16. Brazzelli M, McKenzie L, Fielding S, Fraser C, Clarkson J, Kilonzo M, Waugh N.  
Systematic review of the effectiveness and cost-effectiveness of HealOzone for the treatment of occlusal pit/fissure caries and root caries.  
Health Technol Assess. 2006 May;10(16):iii-iv, ix-80.
17. Brennan SS, Foster ME, Leaper DJ.  
Antiseptic toxicity in wounds healing by secondary intention.  
J Hosp Infect. 1986 Nov;8(3):263-7.
18. Buttler TK, Crawford JJ.  
The detoxifying effect of varying concentrations of sodium hypochlorite on endotoxins.  
J Endod. 1982 Feb;8(2):59-66.

19. Byström A, Sundqvist G.  
Bacteriologic evaluation of the effect of 0.5 percent sodium hypochlorite in endodontic therapy.  
Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1983 Mar;55(3):307-12.
20. Calas P, Rochd T, Druilhet P, Azais JM.  
In vitro adhesion of two strains of *Prevotella nigrescens* to the dentin of the root canal: the part played by different irrigation solutions.  
J Endod. 1998 Feb;24(2):112-5.
21. Cunningham WT, Joseph SW.  
Effect of temperature on the bactericidal action of sodium hypochlorite endodontic irrigant.  
Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1980 Dec;50(6):569-71.
22. Dahlén G, Magnusson BC, Möller A.  
Histological and histochemical study of the influence of lipopolysaccharide extracted from *Fusobacterium nucleatum* on the periapical tissues in the monkey *Macaca fascicularis*.  
Arch Oral Biol. 1981;26(7):591-8.
23. Davies RM, Jensen SB, Rindom Schiott C, Løe H, Theilade J  
Anaerobic gliding bacteria isolated from the oral cavity.  
Acta Pathol Microbiol Scand [B] Microbiol Immunol. 1972;80(3):397-402.
24. Delany GM, Patterson SS, Miller CH, Newton CW.  
The effect of chlorhexidine gluconate irrigation on the root canal flora of freshly extracted necrotic teeth.  
Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1982 May;53(5):518-23.
25. Ercan E, Dalli M, Dülgergil CT.  
In vitro assessment of the effectiveness of chlorhexidine gel and calcium hydroxide paste with chlorhexidine against *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*.  
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Aug;102(2):e27-31. Epub 2006 Jun 6.
26. Figdor D, Sundqvist G.  
A big role for the very small--understanding the endodontic microbial flora.  
Aust Dent J. 2007 Mar;52(1 Suppl):S38-51.
27. Filippi A, Tilkes F, Beck EG, Kirschner H.  
Water disinfection of dental treatment units using ozone  
Dtsch Zahnärztl Z. 1991 Jul;46(7):485-7.



28. Fisch EA.  
Therapy of periodontal inflammation. [Article in Italian]  
Minerva Stomatol. 1955 Jan-Feb;4(1):8-10.
29. Frai S, Ng YL, Gulabivala K.  
Some factors affecting the concentration of available chlorine in commercial sources of sodium hypochlorite.  
Int Endod J. 2001 Apr;34(3):206-15.
30. Gomes BP, Pinheiro ET, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ.  
Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction.  
J Endod. 2008 May;34(5):537-40. Epub 2008 Mar 4.
31. Gomes BP, Pinheiro ET, Sousa EL, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ.  
Enterococcus faecalis in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis.  
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Aug;102(2):247-53. Epub 2006 Jun 8.
32. Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ.  
Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against Enterococcus faecalis in bovine root dentine in vitro.  
Int Endod J. 2003 Apr;36(4):267-75.
33. Grawehr M, Sener B, Waltimo T, Zehnder M.  
Interactions of ethylenediamine tetraacetic acid with sodium hypochlorite in aqueous solutions.  
Int Endod J. 2003 Jun;36(6):411-7.
34. Haapasalo M, Orstavik D.  
In vitro infection and disinfection of dentinal tubules.  
J Dent Res. 1987 Aug;66(8):1375-9.
35. Haapasalo M, Qian W, Portenier I, Waltimo T.  
Effects of dentin on the antimicrobial properties of endodontic medicaments.  
J Endod. 2007 Aug;33(8):917-25. Epub 2007 Jun 22.
36. Haight-Ponce E, Endo H, Horiuchi H.  
Endotoxin activity measured by limulus assay.  
Endod Dent Traumatol. 1999 Jun;15(3):109-12.

37. Hauser V, Braun A, Frentzen M.  
Penetration depth of a dye marker into dentine using a novel hydrodynamic system (RinsEndo).  
Int Endod J. 2007 Aug;40(8):644-52. Epub 2007 May 26.
38. Hellwig, Klimek, Attin;  
Einführung in die Zahnerhaltung;  
Urban&Fischer Verlag, 2. Auflage, 1999
39. Hems RS, Gulabivala K, Ng YL, Ready D, Spratt DA.  
An in vitro evaluation of the ability of ozone to kill a strain of *Enterococcus faecalis*.  
Int Endod J. 2005 Jan;38(1):22-9.
40. Holmes J.  
Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomised, controlled 18-month trial.  
Gerodontology. 2003 Dec;20(2):106-14.
41. Horiba N, Maekawa Y, Matsumoto T, Nakamura H.  
A study of the distribution of endotoxin in the dentinal wall of infected root canals.  
J Endod. 1990 Jul;16(7):331-4.
42. Johnson BR, Remeikis NA.  
Effective shelf-life of prepared sodium hypochlorite solution.  
J Endod. 1993 Jan;19(1):40-3.
43. Kayaoglu G, Ørstavik D.  
Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodontic disease.  
Crit Rev Oral Biol Med. 2004 Sep 1;15(5):308-20.
44. Kidd EA.  
Role of chlorhexidine in the management of dental caries.  
Int Dent J. 1991 Oct;41(5):279-86.
45. Klimm W, Zeumer H, Kloss HJ, Natusch I, Wildführ W.  
Chlorhexidine in the treatment of root canal infection and its sequels.  
Z Stomatol. 1989 May;86(3):131-8.
46. Komorowski R, Grad H, Wu XY, Friedman S.  
Antimicrobial substantivity of chlorhexidine-treated bovine root dentin.  
J Endod. 2000 Jun;26(6):315-7.

47. Kuruvilla JR, Kamath MP.  
Antimicrobial activity of 2.5% sodium hypochlorite and 0.2% chlorhexidine gluconate separately and combined, as endodontic irrigants.  
J Endod. 1998 Jul;24(7):472-6.
48. Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung  
Jahrbuch 2007.
49. Lenet BJ, Komorowski R, Wu XY, Huang J, Grad H, Lawrence HP, Friedman S.  
Antimicrobial substantivity of bovine root dentin exposed to different chlorhexidine delivery vehicles.  
J Endod. 2000 Nov;26(11):652-5.
50. Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LA, Nelson Filho P, Bonifácio KC, Ito IY.  
In vivo antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigating solution.  
J Endod. 1999 Mar;25(3):167-71.
51. Love RM.  
Enterococcus faecalis--a mechanism for its role in endodontic failure.  
Int Endod J. 2001 Jul;34(5):399-405.
52. Molander A, Reit C, Dahlén G, Kvist T.  
Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis.  
Int Endod J. 1998 Jan;31(1):1-7.
53. Müller P, Guggenheim B, Schmidlin PR.  
Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro.  
Eur J Oral Sci. 2007 Feb;115(1):77-80.
54. Nagayoshi M, Kitamura C, Fukuizumi T, Nishihara T, Terashita M.  
Antimicrobial effect of ozonated water on bacteria invading dentinal tubules.  
J Endod. 2004 Nov;30(11):778-81.
55. Okino LA, Siqueira EL, Santos M, Bombana AC, Figueiredo JA.  
Dissolution of pulp tissue by aqueous solution of chlorhexidine digluconate and chlorhexidine digluconate gel.  
Int Endod J. 2004 Jan;37(1):38-41.
56. Peciuliene V, Balciuniene I, Eriksen HM, Haapasalo M  
Isolation of Enterococcus faecalis in previously root-filled canals in a Lithuanian population.  
J Endod. 2000 Oct;26(10):593-5.

57. Portenier I, Haapasalo H, Ørstavik D, Yamauchi M, Haapasalo M.  
Inactivation of the antibacterial activity of iodine potassium iodide and chlorhexidine digluconate against *Enterococcus faecalis* by dentin, dentin matrix, type-I collagen, and heat-killed microbial whole cells.  
*J Endod.* 2002 Sep;28(9):634-7.
58. Portenier I, Waltimo T, Ørstavik D, Haapasalo M.  
Killing of *Enterococcus faecalis* by MTAD and chlorhexidine digluconate with or without cetrimide in the presence or absence of dentine powder or BSA.  
*J Endod.* 2006 Feb;32(2):138-41.
59. Ram Z.  
Effectiveness of root canal irrigation.  
*Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1977 Aug;44(2):306-12.
60. Rôças IN, Hülsmann M, Siqueira JF Jr.  
Microorganisms in root canal-treated teeth from a German population.  
*J Endod.* 2008 Aug;34(8):926-31.
61. Rosenthal S, Spångberg L, Safavi K.  
Chlorhexidine substantivity in root canal dentin.  
*Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004 Oct;98(4):488-92.
62. Roy D, Wong PK, Engelbrecht RS, Chian ES.  
Mechanism of enteroviral inactivation by ozone.  
*Appl Environ Microbiol.* 1981 Mar;41(3):718-23.
63. Sarbinoff JA, O'Leary TJ, Miller CH.  
The comparative effectiveness of various agents in detoxifying diseased root surfaces.  
*J Periodontol.* 1983 Feb;54(2):77-80.
64. Sassone L, Fidel R, Figueiredo L, Fidel S, Faveri M, Feres M.  
Evaluation of the microbiota of primary endodontic infections using checkerboard DNA-DNA hybridization.  
*Oral Microbiol Immunol.* 2007 Dec;22(6):390-7.
65. Sassone LM, Fidel RA, Murad CF, Fidel SR, Hirata R Jr.  
Antimicrobial activity of sodium hypochlorite and chlorhexidine by two different tests.  
*Aust Endod J.* 2008 Apr;34(1):19-24.

66. Shuping GB, Orstavik D, Sigurdsson A, Trope M.  
Reduction of intracanal bacteria using nickel-titanium rotary instrumentation and various medications.  
J Endod. 2000 Dec;26(12):751-5.
67. Siqueira JF Jr, Machado AG, Silveira RM, Lopes HP, de Uzeda M.  
Evaluation of the effectiveness of sodium hypochlorite used with three irrigation methods in the elimination of *Enterococcus faecalis* from the root canal, in vitro.  
Int Endod J. 1997 Jul;30(4):279-82.
68. Siqueira JF Jr, Rôças IN.  
Polymerase chain reaction-based analysis of microorganisms associated with failed endodontic treatment.  
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004 Jan;97(1):85-94.
69. Sirén EK, Haapasalo MP, Waltimo TM, Ørstavik D.  
In vitro antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on *Enterococcus faecalis*.  
Eur J Oral Sci. 2004 Aug;112(4):326-31.
70. Sjögren U, Figdor D, Persson S, Sundqvist G.  
Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis.  
Int Endod J. 1997 Sep;30(5):297-306. Erratum in: Int Endod J 1998 Mar;31(2):148.
71. Sjögren U, Figdor D, Spångberg L, Sundqvist G.  
The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing.  
Int Endod J. 1991 May;24(3):119-25.
72. Sjögren U, Sundqvist G.  
Bacteriologic evaluation of ultrasonic root canal instrumentation.  
Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1987 Mar;63(3):366-70.
73. Spratt DA, Pratten J, Wilson M, Gulabivala K.  
An in vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of irrigants on biofilms of root canal isolates.  
Int Endod J. 2001 Jun;34(4):300-7.
74. Stübinger S, Sader R, Filippi A.  
The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review.  
Quintessence Int. 2006 May;37(5):353-9.

75. Svec TA, Harrison JW.  
Chemomechanical removal of pulpal and dentinal debris with sodium hypochlorite and hydrogen peroxide vs normal saline solution.  
J Endod. 1977 Feb;3(2):49-53.
76. Svec TA, Harrison JW.  
The effect of effervescence on debridement of the apical regions of root canals in single-rooted teeth.  
J Endod. 1981 Jul;7(7):335-40.
77. Thé SD.  
The solvent action of sodium hypochlorite on fixed and unfixed necrotic tissue.  
Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1979 Jun;47(6):558-61.
78. Torabinejad M, Cho Y, Khademi AA, Bakland LK, Shabahang S.  
The effect of various concentrations of sodium hypochlorite on the ability of MTAD to remove the smear layer.  
J Endod. 2003 Apr;29(4):233-9. Erratum in: J Endod. 2003 Jun;29(6):424.
79. Torabinejad M, Khademi AA, Babagoli J, Cho Y, Johnson WB, Bozhilov K, Kim J, Shabahang S.  
A new solution for the removal of the smear layer.  
J Endod. 2003 Mar;29(3):170-5.
80. Türkün M, Cengiz T.  
The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root canal cleanliness.  
Int Endod J. 1997 Sep;30(5):335-42.
81. Vahdaty A, Pitt Ford TR, Wilson RF.  
Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro.  
Endod Dent Traumatol. 1993 Dec;9(6):243-8.
82. Viehbahn-Hänsler R., Beck E.G.  
Ozon-Handbuch  
Ecomed Verlag, 1995-2006
83. Wang CS, Arnold RR, Trope M, Teixeira FB.  
Clinical efficiency of 2% chlorhexidine gel in reducing intracanal bacteria.  
J Endod. 2007 Nov;33(11):1283-9.
84. Wang DM, Gao XJ, Shen S.  
Comparison of antimicrobial efficacy of four endodontic irrigants using an in vitro model infected by *Enterococcus faecalis*  
Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2007 Apr;42(4):223-4.

85. Yang SF, Rivera EM, Baumgardner KR, Walton RE, Stanford C.  
Anaerobic tissue-dissolving abilities of calcium hydroxide and sodium hypochlorite.  
J Endod. 1995 Dec;21(12):613-6.
86. Zehnder M, Kosicki D, Luder H, Sener B, Waltimo T.  
Tissue-dissolving capacity and antibacterial effect of buffered and unbuffered hypochlorite solutions.  
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2002 Dec;94(6):756-62.

## 10. Materialliste

Neben dem üblichen Instrumentarium in der Krankenhaushygiene und Mikrobiologie sowie dem zahnärztlichen Instrumentarium kamen die im Folgenden aufgeführten Geräte und Materialien zur Anwendung:

- **Ozongenerator HealOzone® Fa. KaVo**, KaVo Dental GmbH, Biberach/Riß, Deutschland
- **Columbia-Blutagar-Platten**, bioMerieux, Nürtingen, Germany
- **Chlorhexamed forte 0,2%**, GlaxoSmithKline, Bühl, Deutschland
- **Gesättigte Thymol-Lösung**, Apothekenprodukt
- **Natriumhypochlorit-Lösung 1,5% und 3%**, Apothekenprodukt
- **Wasserstoffperoxid-Lösung 3%**, Apothekenprodukt
- **Kochsalzlösung 0,9% steril**, Apothekenprodukt
- **Headströmfeilen Colorinox® ISO 15-60**, Dentsply DETREY GmbH, Deutschland
- **Reamer Colorinox® ISO 15-60**, Dentsply DETREY GmbH, Deutschland
- **Enterococcus faecalis**, Reinkultur
- **Mineralbasislösung**, Apothekenprodukt
- **Insulinspritze 0,3 ml**, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
- **Luer-Spritzen 2ml und 10 ml**, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
- **Sterile Gummischläuche**, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland
- **Parafinfilm**, Apothekenprodukt



## 11. Lebenslauf

### Persönliches

Leona Giepen, geb. Bohackova  
geboren am 04.09.1975 in Marienbad

### Schulausbildung

1982 - 1986	Grundschule Hagen-Hohenlimburg
1986 - 1995	Gymnasium Essen, Abitur im Mai 1995
1995 - 1997	Auslandsstudium der Zahnheilkunde an der Freien Universität Brüssel

### Studium

04/1998	Beginn des Studiums der Zahnheilkunde an der Philipps-Universität Marburg
04/1999	Naturwissenschaftliche Vorprüfung
08/2000	Zahnärztliche Vorprüfung
06/2003	Zahnärztliche Prüfung

### Beruf

ab 01.01.2004	Vorbereitungsassistentin in der Zahnarztpraxis Dr. Wulf Scherer in Westerborg
ab 01.01.2006	Angestellte Zahnärztin in der Zahnarztpraxis Dr. Dimitrie Sava in Essen
ab 01.04.2006	Niederlassung in eigener Praxis, Essen

### Sonstiges

Grundkenntnisse EDV  
Sprachkenntnisse: Französisch, Niederländisch, Tschechisch, Englisch

## 12. Lehrerverzeichnis

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren folgende Damen und Herren Professoren und Privatdozenten:

Aumüller, Austermann, Cetin, Coca, Czubayko, Daut, Dibbets, Feuser, Flores-de-Jacoby, Gente, Geus, Fruhstorfer, Holzheidt, Jungclas, Kern, Koolmann, Lammel, Lang, Lange, Lehmann, Lotzmann, Löffler, McGregor, Mengel, Mittag, Pieper, Radsak, Ramaswamy, Richter, Röhm, Schumacher, Seitz, Stachniss, Stoll, Steininger, Stelzel, Suske, Umstadt, Voigt, Weihe, Wenz, Werner, Westermann, Zelder.

## 13. Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. R. Stoll für die aufmerksame Anleitung, die intensive Betreuung und konstruktive Hilfe bei der Anfertigung und Vollendung dieser Dissertation sowie die Überlassung dieses interessanten und praxisnahen Themas.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. R. Mutters für die Unterstützung und Bereitstellung des Laborarbeitsplatzes in seinem Institut bedanken. Weiterhin danke ich der medizinisch-technischen Assistentin Frau Susanne Riehl, welche mich während der Laborarbeit unterstützt hat.

Ich danke meiner Familie, die mir zu jedem Zeitpunkt größtmögliche Freiheit und Unterstützung in jeder Hinsicht gewährt hat. Ein spezieller Dank gebührt meinem Mann, welcher mich bei der Verwirklichung dieser Arbeit sehr unterstützt hat und jederzeit für mich da gewesen ist.

## 14. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel „*Zur Verwendung von ozoniertem Sauerstoff als Desinfektionsmittel im Wurzelkanal*“ im Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, unter der Leitung von Prof. Dr. Ulrich Lotzmann mit Unterstützung durch Prof. Dr. Richard Stoll, ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- und ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Die vorliegende Arbeit wurde in folgendem Publikationsorgan veröffentlicht:

Stoll R, Venne L, Jablonski-Momeni A, Mutters R, Stachniss V.  
The disinfecting effect of ozonized oxygen in an infected root canal: an in vitro study.  
**Quintessence Int. 2008 Mar; 39(3):231-6.**

Bottrop, den 24. Juni 2009